



Traceurs organiques dans les spéléothèmes : approche expérimentale et application au paléoenvironnement holocène du Massif des Bauges.

Marine Quiers

► To cite this version:

Marine Quiers. Traceurs organiques dans les spéléothèmes : approche expérimentale et application au paléoenvironnement holocène du Massif des Bauges.. Sciences de la Terre. Université Grenoble Alpes, 2015. Français. NNT : 2015GREAA035 . tel-01307313

HAL Id: tel-01307313

<https://theses.hal.science/tel-01307313>

Submitted on 26 Apr 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Sciences de la Terre, de l'Univers et de l'Environnement**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Marine QUIERS

Thèse dirigée par **Jean-Jacques DELANNOY**

et codirigée par **Yves PERRETTE**

préparée au sein du laboratoire **EDYTEM (Environnements, DYnamiques et TErritoires de la Montagne)**

et de l'école doctorale **SISEO (Sciences et Ingénierie des Systèmes, de l'Environnement et des Organisations)**

Traceurs organiques dans les spéléothèmes

*Approche expérimentale et application au
paléoenvironnement holocène du massif des
Bauges.*

Thèse soutenue publiquement le **17 Décembre 2015**,
devant le jury composé de :

M. Dominique SCHWARTZ

Professeur, Université de Strasbourg - LIVE, Président

M. Dominique GENTY

Directeur de Recherche CNRS, Université de Versailles - LSCE, Rapporteur

M. Stéphane MOUNIER

Maître de Conférences, Université de Toulon - PROTEE, Rapporteur

M. Emmanuel NAFFRECHOUX

Professeur, Université de Savoie Mont-Blanc - LCME, Examinateur

M. Jean-Jacques DELANNOY

Professeur, Université de Savoie Mont-Blanc - EDYTEM, Directeur de thèse

M. Yves PERRETTE

CR CNRS, Université de Savoie Mont-Blanc - EDYTEM, Co-Directeur de thèse



Résumé

Le travail développé dans ce manuscrit a pour objectif de tester l'intérêt des spéléothèmes en tant qu'archives pédologiques, dans le but de reconstruire l'histoire des sols à haute-résolution durant la période Holocène. Cette période est particulièrement intéressante du fait du couplage des forçages climatiques et anthropiques sur l'environnement. Les réponses des sols à ces forçages sont conservées au cours du temps mais les processus d'archivage des sols ne permettent pas d'obtenir un enregistrement continu et haute-résolution. Les spéléothèmes, en tant qu'archives pédologiques, représentent donc une porte d'accès pour reconstituer l'histoire des sols.

Si l'utilisation du $\delta^{13}\text{C}$, proxy inorganique du paléoenvironnement dans les spéléothèmes, est courante, celle des proxies organiques est moins habituelle. Pour répondre à son objectif, ce travail s'appuie donc sur une partie expérimentale visant à tester la robustesse des proxies organiques comme indicateurs des variations environnementales au cours du temps, et sur l'utilisation d'indicateurs robustes pour reconstruire l'évolution de l'environnement dans les Bauges durant les 6000 dernières années.

La gamme diversifiée d'indicateurs organiques dans les spéléothèmes, allant d'un signal global de la matière organique (MO) jusqu'aux indicateurs moléculaires, offre une variation importante du degré d'information apportée, au niveau de la résolution temporelle comme au niveau de la qualité de l'information. Le $\delta^{13}\text{C}$ de la MO (indicateur de la dynamique de la MO dans les sols) et les lipides (indicateurs des contributions des différentes sources) ont été analysés en complément du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite. Les Hydrocarbure Aromatiques Polycycliques (HAP) ont également été utilisés comme molécule sonde pour comprendre le transfert de ce type de composé et comme indicateur des combustions passées, naturelles ou anthropiques. Une attention particulière a été portée pour optimiser la méthode analytique afin d'améliorer la résolution temporelle des analyses. Les résultats obtenus pour ces proxies ne sont pas exploitables et montrent un manque de robustesse attribué à des problèmes analytiques ($\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$, lipides), au type d'alimentation des spéléothèmes (HAP), ou à des effets de site ($\delta^{13}\text{C}$).

L'analyse de fluorescence UV en phase solide a été utilisée pour obtenir un enregistrement haute-résolution des variations semi-quantitatives et qualitatives de la MO. Un protocole a été développé pour quantifier l'intensité de fluorescence en phase solide. L'intensité de fluorescence en phase liquide des sols et d'extraits de MO des spéléothèmes ont été couplées par un modèle non linéaire à la fluorescence haute résolution en phase solide. Cette méthode a été appliquée sur une stalagmite du Vercors (400 dernières années) et permet d'obtenir une chronique des flux de MO exportée depuis les sols.

Un enregistrement composite a été créé à partir de trois spéléothèmes prélevées dans le massif des Bauges, se recoupant sur les derniers 6000 ans. La comparaison de la réplique du signal de ces stalagmites a permis de conserver deux indicateurs : le $\delta^{18}\text{O}$ et l'intensité de fluorescence de la MO, à partir desquels ont été interprétés les variations du paléoenvironnement. Elles ont été replacées dans un contexte paléoenvironnemental local par comparaison avec des archives sédimentaires lacustres. L'interprétation réalisée montre alors une réponse de l'environnement aux forçages climatiques, basculant vers un forçage anthropique au cours du temps.

Cette étude a montré qu'il est possible d'obtenir un enregistrement haute-résolution de l'histoire des sols à l'échelle de la période Holocène par l'utilisation de la fluorescence de la MO en phase solide. Le couplage avec des indicateurs organiques plus informatifs a cependant montré la limite de l'utilisation de ces derniers, due à leur manque de robustesse. La combinaison du signal d'intensité de fluorescence avec le $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes a tout de même permis de réaliser une interprétation des variations environnementales durant l'Holocène. Celle-ci pourrait être améliorée en intégrant d'autres traceurs inorganiques à l'approche multi-proxies.

Abstract

The experimental work developed in this thesis aims to test the interest of speleothems as pedologic archives, in order to obtain a high resolution record of past soil variations during the Holocene. This period is particularly interesting due to the combination of climatic and anthropic forcing on environment. Even though soils record the environment response to these forcings, it is difficult to obtain a high resolution continuous record using these archives. Using speleothems as pedologic archives would be a way to reconstruct past soil variations.

$\delta^{13}\text{C}$ is a widely used inorganic proxy for paleoenvironmental reconstruction whereas the use of organic proxies is less common. This work is based on an experimental part which aims to test the robustness of organic proxies as tracers of environmental variations. Thus, these proxies would be employed to reconstruct Bauges massif environmental variations from mid-Holocene until today.

The range of organic proxies in speleothems, indicators from bulk to specific signal of organic matter (OM) variations, provides information with different degrees of quality and temporal resolution. Organic matter $\delta^{13}\text{C}$ (tracer of OM dynamic in soils) and lipids (tracers of sources contribution) were analysed in addition to the $\delta^{13}\text{C}$ of calcite. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) were also used as a "probe" molecule to understand organic matter transfer to karst systems, and as a proxy of past climatic and anthropic combustions. Attention was paid to the optimisation of the analytical method to improve the temporal resolution of the analyses. The results obtained for these proxies are not useable and show a lack of robustness associated with analytical problems ($\delta^{13}\text{C}_{\text{OM}}$, lipids), the feeding type of the stalagmite (PAH), or with the site-specific effects ($\delta^{13}\text{C}$).

Solid phase UV fluorescence analysis was performed to obtain a high resolution record of qualitative and semi-quantitative OM variations. A method was developed to quantify the solid phase fluorescence intensity. Liquid phase fluorescence intensity of soil and OM extracts from speleothems were coupled with the solid phase fluorescence using a non linear model. A record of OM fluxes exported from soils was obtained when applying this method on a stalagmite from the Vercors massif (last 400 years).

A composite record was built using three speleothems from the Bauges massif. Comparison of the three signals shows that only two indicators can be used as paleoclimatic or environmental proxies : the $\delta^{18}\text{O}$ and the organic matter fluorescence intensity. These proxies have been used to propose a reconstruction of environmental variations during the last 6000 years. These interpretations have been related to other sedimentary archives to include our work in a local paleoenviron-

mental context. The speleothems record the response of the environment to climate forcing with an anthropic forcing becoming predominant over time.

This study showed that it is possible to obtain a high resolution record of past soil variations at the scale of the Holocene, using the solid phase fluorescence of OM. Coupling with other organic proxies however highlighted the limit of their use, due to a lack of robustness. Though, comparison with $\delta^{18}\text{O}$ of speleothems enable the reconstruction of environmental variations during the Holocene, which could be improved by the coupling with other inorganic proxies.

Remerciements

Se lancer dans une thèse, c'est un peu comme partir en expédition : on ne sait pas trop comment ça va se passer ni sur quoi on va tomber, mais on est super motivé. La thèse c'est une aventure absolument passionnante mais c'est également une aventure pleine de nombreux obstacles, difficiles et parfois frustrants, qu'il faut surmonter. Et comme dans toute expédition, pour nous aider à surmonter ces obstacles, il y a les compagnons d'aventure. Une fois que la thèse est terminée, qu'on réalise petit à petit qu'on a réussi et qu'on a atteint notre but, on a envie de remercier tous ces compagnons d'aventure, parce que sans eux, on en serait pas là.

Je tiens à remercier tout d'abord les membres de mon jury qui ont validé cette expédition. Merci à mes deux rapporteurs, M. Dominique Genty et M. Stéphane Mounier, pour leur lecture avisée de mon manuscrit et toutes les remarques qui m'ont et qui m'amèneront à améliorer mon travail. Je tiens également à remercier mes examinateurs, M. Emmanuel Naffrechoux et M. Dominique Schwartz, également président de ce jury, pour avoir accepté de juger ce travail ainsi que pour leurs remarques et leurs questions judicieuses.

Cette aventure a commencé grâce à mes deux chefs d'expédition et directeurs de thèse : Jean-Jacques Delannoy et Yves Perrette. Merci à Jean-Jacques pour avoir cru en mes capacités mais aussi pour ses conseils et ses remarques avisées sur mon travail. Un très grand merci à Yves, qui depuis que je suis "toute petite" a cru en moi. Merci de m'avoir laissée tracer mon propre chemin tout en étant toujours derrière moi. Bien-sûr j'ai râlé, parcouru des kilomètres dans le laboratoire en devenant experte au jeu très connu de "mais où est Yves ?" mais tu as toujours été disponible quand j'en avais besoin, tu m'as toujours poussée pour aller plus loin et même s'il me faut toujours 15 lignes pour coder ce que tu fais en 2 lignes, j'ai beaucoup appris grâce à toi (notamment à arrêter de toujours remettre en question mes données). Pour tout ça, merci !

Le camp de base de mon expédition est le laboratoire EDYTEM de l'Université de Savoie Mont-Blanc. Les locaux agréables, le matériel de pointe à disposition et surtout une équipe exceptionnelle et chaleureuse ont formé un soutien indispensable tout au long de ces 4 années. Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidée à potasser le topo, choisir le bon matériel, et surtout qui m'ont encouragée, et sans lesquelles ce travail

n'aurait pas été le même.

Merci à Jérôme Poulenard, l'électron libre, pour toutes les connaissances sur les sols et la matière organique qu'il a bien voulu partager avec moi, pour m'avoir montré des podzols de cinéma et pour toutes ses petites attentions.

Merci à Emilie Chalmin, pour toutes les discussions sur l'escalade, Montania, ou autre, et surtout pour son immense aide en chimie.

Merci à Anne-Lise Develle, ma "grande soeur", pour son aide dans mon travail mais surtout pour tout le reste : les conseils, les encouragements, la dédramatisation de la thèse et les projets fous de Fluo Girls. C'est pas tous les jours qu'on peut chanter les meilleures chansons de Butters avec quelqu'un !

Je tiens également à remercier Bernard Fanget, pour toutes les choses que j'ai apprises grâce à lui. Il a toujours pris le temps de répondre à mes questions et de réfléchir à mes problèmes et sans lui j'aurais avancé beaucoup moins vite.

Merci beaucoup à Manu Malet, mon compagnon de terrain qui m'a été d'une aide précieuse ! J'ai passé de très bons moments sur le terrain en sa compagnie et grâce à lui, de nombreuses "questions camion" ont pu être résolues !

Merci à Fayçal, pour toutes les découpes et enrésinements et surtout pour sa bonne humeur !

Merci aussi à Isabelle et Russel, pour leurs nombreux conseils de stalagmitologues qui m'ont été très utiles.

Je tiens également à remercier tous mes collègues du laboratoire, qui même si je ne travaillais pas directement avec eux, sont les acteurs d'une ambiance chaleureuse au laboratoire et avec qui les discussions de couloir sont toujours un plaisir. Merci aussi à Carole et Christine, pour leur efficacité et toutes les formalités administratives qu'elles rendent beaucoup moins compliquées. Merci à tous les stagiaires et notamment Morgane et Erika, qui m'ont fait un super boulot !

Si le camp de base a été d'un très grand soutien, d'autres camps d'approche m'ont été d'une grande aide dans cette expédition. Je tiens à remercier Alison Blyth et Colin Smith qui m'ont accueillis dans leurs laboratoires et formée aux techniques de géochimie pour torturer les stalagmites. Merci également à Patrick Albéric pour les séjours à l'ISTO, ses conseils et toutes les analyses qu'il m'a aidée à réaliser et interpréter. Merci à David pour son aide avec les cours, et notamment les merveilleux TD de méthode végétale... ! Enfin, un grand merci au laboratoire LCME dans lequel j'ai traîné des jours durant dans l'espoir de découvrir des HAP. Pour leur accueil, leur aide inestimable, leur gentillesse et leur humour (de chimiste) et pour toutes les choses qu'ils m'ont apprises, je tiens à remercier l'équipe du LCME et en particulier Manu, Violaine, Nathalie, Liliane. Un grand merci à Marion pour tout le travail qu'elle a réalisé sur mes échantillons et pour sa bonne humeur communicative !

Enfin, il faut que je remercie mes compagnons de cordée et de bureau, sans qui cette expédition aurait pu se terminer dans une crevasse avant d'arriver au sommet : merci à mes collègues doctorants. L'ambiance chaleureuse du bureau est un vrai moteur et un soutien

incroyable, surtout dans les moments difficiles : comme dans une cordée, quand il y en a un qui tombe, il y a toujours les autres pour le remonter (en se moquant d'abord, bien entendu). Je ne nommerai pas tous les thésards qui ont défilé dans le bureau depuis le début de ma thèse mais merci à

Manon pour les conseils lacustres et de badminton,

Haixing pour ses coups sadiques au badminton,

Eve pour sa bonne humeur permanente,

Anouk pour son énergie et les conversations passionnantes sur le coupage de tête des banquiers, Mélanie pour tous les projets de voyage et d'activités sportives, et pour sa motivation à toute épreuve,

Gégé, parce que sans elle, notre bureau ne serait pas le même,

Florence pour tous les trucs incroyables qui lui sont arrivés, les discussions de thèse et de neige,

Johan, parce que maintenant, on sait tous qu'il y a un gros chamalow sous le rugbyman, toujours là quand on a besoin d'aide (dis johan, j'ai une question sur illustrator) et prêt pour une bière ou un potin,

Laurent, parce qu'il m'a expliqué 15 fois, toujours avec la même patience, la différence entre BC, BP et tout le reste, parce qu'on peut toujours compter sur lui pour le travail ou le reste,

Lise, parce que sans notre surricate, le bureau serait bien trop triste et trop calme, et qu'elle est toujours là pour donner un coup de main,

Camille, parce qu'elle a un vrai détecteur pour quand ça va pas, et qu'elle est toujours là pour s'inquiéter de nous et nous proposer un coup de main.

Merci au doctorant de la face obscure, Benjamin ou Bengo le poulet, pour son aide en chimie, ses projets SLIP, son hyperactivité, son humour et surtout pour toutes les soirées et moments agréables passés en sa compagnie (comme le lit radio).

Merci à mes amis, qui même de loin ont supporté mes espoirs et mes plaintes : Benjamin, Laure et Virgile, Rami, Fred, Fab, Aurel et Poupi, Carole, Mylène, Marie et Fred, Florent, les collègues croisés à Labelle Bière, mes colloqs préférés Pierre et Yoyo. Parce que chacun des moments passés avec vous a été une bouffée d'air frais et un réel plaisir. Un grand merci à Léo et bien sûr Tanya, toujours là pour moi...

Merci à ma famille qui m'a toujours soutenue dans ce que je faisais, et qui même si certains ont dû se faire rabrouer sur la question fatale "et ta thèse, ça en est où ?", se sont toujours intéressés à mon travail et ont toujours eu plein de petites attentions qui remontent le moral au quotidien.

Merci à mon chien, pour toutes les conversations passionnantes que j'ai pu avoir avec lui durant ma rédaction.

Merci à Pedro, pour tout...

Sommaire

Résumé	iii
Abstract	v
Remerciements	vii
1 Introduction générale	1
1.1 Paléoclimat	1
1.2 L'environnement au centre des interactions Homme-Climat	2
1.3 Sensibilité des milieux de montagne	4
1.4 Le sol, témoin des changements environnementaux	5
1.5 Les spéléothèmes : des archives pédologiques	9
1.6 Problématique	11
2 Contexte de l'étude	15
2.1 Site d'étude	15
2.2 Les spéléothèmes de Garde-Cavale	33
3 Les proxies organiques émergents	45
3.1 Matière organique et concepts moléculaires	47
3.2 Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique	50
3.3 Les HAP, marqueurs des pollutions anthropiques	73
3.4 Les lipides, proxies des relations sol-végétation	95
3.5 Conclusions	104
4 La fluorescence de la matière organique	105
4.1 État de l'art	105
4.2 Méthodologie de la mesure de fluorescence en phase solide	121
4.3 Développement méthodologique : la quantification du signal de fluorescence	128
4.4 Conclusions	158

5	Interprétation des changements environnementaux à la Féclaz durant l'Holocène.	161
5.1	Réplication du signal	161
5.2	Signal environnemental des stalagmites de Garde-Cavale	173
5.3	Synthèse	204
5.4	Perspectives d'aide à l'interprétation	206
	Conclusion générale	211
	Bibliographie	242
	Annexes	247
	Annexe 1 - Article Quiers <i>et al.</i> , 2015	250
	Annexe 2 - Tableau des paramètres de simulation des spectres	258
	Annexe 3 - Cartes d'intensités des différents fluorophores simulés	259
	Annexe 4 - Code Matlab utilisé pour la simulation des spectres de fluorescence	261
	Annexe 5 - Poster présenté au Congrès ASF 2013	268

Liste des tableaux

2.1	Résultats des datations U-Th pour chaque prélèvement des trois spéléothèmes de Garde-Cavale.	35
3.1	Sélection de coefficients de variations du $\delta^{13}\text{C}$ de plantes en C3 en fonction de la température pour différentes études.	52
3.2	Paramètres des analyses du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ en LC-IRMS à l'Université de LaTrobe et à l'Université d'Orléans.	62
3.3	$\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des échantillons d'eau et d'extraits de sols mesurés à l'ISTO et corrigés à partir de la correction bilinéaire.	69
3.4	Structure moléculaire des HAP définis comme prioritaires par l'US-EPA. . .	74
3.5	HAP ciblés par la méthode d'extraction et d'analyse utilisée dans cette étude.	83
3.6	Gamme d'étalonnage utilisée en HPLC pour l'analyse des HAP.	90
3.7	Résultats des différents rendements effectués à l'aide d'une solution standard SM20 (5 $\mu\text{g/mL}$ par HAP, pour <i>Rdt1</i>) et SM4000 (0,025 $\mu\text{g/mL}$ par HAP, pour <i>Rdt2</i> à <i>Rdt6</i>) pour l'extraction et l'analyse des HAP.	91
3.8	Différentes masses d'échantillons de calcite broyée et en morceaux utilisées pour l'optimisation du protocole d'extraction des HAP.	92
3.9	Résultats des concentrations (ng/g de calcite) dans les échantillons de calcite broyée (CB) et en morceaux (Ech) pour chaque HAP, après soustraction de la concentration moyenne des blancs.	93
3.10	Tableau de différents indices basés sur l'analyse des lipides dans les spéléothèmes et l'information paléoenvironnementale associée.	97
4.1	Caractéristiques des sols prélevées dans le Massif des Bauges et dans le Massif du Vercors.	130
4.2	Concentrations en carbone organique (mg C/g calcite) dans les échantillons de stalagmites estimées à partir de la fluorescence spécifique des sols. . . .	134
4.3	Degré de porosité de la calcite et les concentrations en carbone organiques prédites avec le modèle non linéaire des 20 échantillons prélevés sur la stalagmite TAM.	135

4.4	Tableau des caractéristiques des mesures utilisées dans ce manuscrit et réalisées sur 3 spéléothèmes du réseau Garde-Cavale (GC09B, GC13A et GC13B).	138
4.5	Corrélation (R et p-value des R) entre spectres moyens mesurés et spectres moyens simulés pour les trois spéléothèmes analysés.	138
4.6	Centres des fonctions log-normales, définis pour l'ajustement des spectres à 266 et 325 nm pour tous les spéléothèmes.	142
4.7	Coefficient de corrélation de Spearman calculé entre les différents pics détectés avec l'ajustement le long de chaque échantillon, à 266 et à 325 nm d'excitation.	144
5.1	Hypothèse d'interprétation des indicateurs mesurés sur les spéléothèmes de Garde-Cavale ($\delta^{18}\text{O}$ et intensité de fluorescence) sur les 4 phases définies préalablement et propositions d'autres indicateurs pour améliorer la robustesse de l'interprétation.	207

Table des figures

1.1	Variations des concentrations des gaz à effet de serre sur les derniers 6000 ans.	2
1.2	Schéma des interactions entre l'occupation des sols et le climat.	3
1.3	Schéma conceptuel de l'évolution des sols à l'étage subalpin pendant l'Holocène.	7
1.4	Différents types de stratégies d'étude de l'histoire des sols.	8
1.5	Schéma conceptuel des questions abordées dans cette thèse.	13
2.1	Carte topographique du plateau de la Féclaz localisant les points marquants du réseau karstique de Garde-Cavale.	16
2.2	Diagramme ombrothermique réalisé à partir des données Météo-France pour la station météorologique de la Féclaz sur la période 2013-2014. . . .	17
2.3	Température et humidité du sol sur le plateau de la Féclaz entre août 2009 et janvier 2012.	18
2.4	Principaux types de sols présents sur le plateau de la Féclaz et leur couvert végétal.	20
2.5	Description du Cambisol eutrique présent au-dessus de la Salle du Précieux. . . .	21
2.6	Carte topographique présentant l'occupation des sols sur le plateau de la Féclaz, en surface du réseau spéléologique de Garde-Cavale.	23
2.7	Photographies illustrant l'impact anthropique actuel sur l'environnement au plateau de la Féclaz.	24
2.8	Changement d'utilisation du plateau de la Féclaz au cours du temps à partir des cadastres historiques et des photographies aériennes.	25
2.9	Colonne stratigraphique des dépôts tertiaires en Bauges méridionales. . . .	26
2.10	Photographies de la Salle du Précieux (réseau de Garde-Cavale).	27
2.11	Carte géologique du plateau de la Féclaz avec la localisations des points marquants du réseau karstique de Garde-Cavale.	28
2.12	Profil géologique Nord-Sud et développement du réseau spéléologique de Garde-Cavale.	29
2.13	Hypothèses de circulation des écoulements de la Salle du Précieux.	30

2.14	Carte de localisation des différentes archives naturelles et anthropiques ainsi que des sites suivis à l'échelle locale.	32
2.15	Topographie spéléologique et coupe transversale de la Salle du Précieux. . .	33
2.16	Photographie, modèle d'âge et caractéristiques principales de l'échantillon GC-09B.	36
2.17	Photographie, modèle d'âge et caractéristiques principales de l'échantillon GC-13A.	37
2.18	Photographie, modèle d'âge et caractéristiques principales de l'échantillon GC-13B.	38
2.19	Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon GC-09B.	40
2.20	Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon GC-13A.	41
2.21	Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon GC-13B.	42
3.1	Structure du modèle Rothamsted de turnover du carbon dans les sols. . . .	48
3.2	Matière organique du sol selon le concept "Polymère".	49
3.3	Modèle conceptuel de la matière organique du sol basé sur le concept des agrégations moléculaires.	50
3.4	Schéma conceptuel de la variation du signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ exportée vers le système karstique, en contexte montagnard.	55
3.5	Méthode d'analyse du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ en LC-IRMS.	60
3.6	Exemple d'une mesure du $\delta^{13}\text{C}$ répliquée trois fois, encadrée par 3 pulses de gaz de référence en entrée et 2 en sortie.	61
3.7	Valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesurées sur la stalagmite GC09B lors des analyses effectuées à l'Université de LaTrobe.	63
3.8	Évolution de l'amplitude du gaz de référence (m/z 44) au cours du temps. . .	65
3.9	Évolution des aires des pics des blancs mesurés durant les analyses.	65
3.10	Évolution des écarts des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ mesurées par rapport à la valeur de référence des standards au cours du temps.	67
3.11	Grille de correction bilinéaire des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$	68
3.12	Valeurs corrigées des $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons de stalagmite mesurés à Orléans et des échantillons répétés.	70
3.13	Comparaison des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons de GC09B mesurés dans les deux laboratoires.	71
3.14	Schéma conceptuel des mécanismes favorisant le dépôt des polluants organiques en montagne.	75
3.15	Différents processus affectant les concentrations des contaminants persistants organiques dans le couvert nival.	77
3.16	Schéma des processus saisonniers influençant les échanges air-surface des contaminants organiques semi-volatiles en montagne.	80
3.17	Évolution des protocoles d'extraction des HAP des spéléothèmes.	85
3.18	Concentration en HAP ($\mu\text{g/mL}$) pour l'échantillon témoin d'acide et l'échantillon d'eau.	86

3.19	Concentration moyenne et écart-type en HAP ($\mu\text{g/mL}$ par composé) des échantillons de blancs (5 échantillons) réalisés selon le protocole final. . . .	88
3.20	Évolution du ratio C_{27}/C_{31} dans le temps marquant un changement de végétation.	97
4.1	Diagramme énergétique de Jablonski représentant les changements d'états électronique d'une molécule à l'origine du phénomène de fluorescence. . . .	106
4.2	Exemple d'un spectre 3D de fluorescence (Matrice d'Excitation-Emission) de matière organique naturelle.	108
4.3	Exemple d'un spectre 3D (EEM) moyen de fluorescence en phase liquide d'un échantillon de spéléothème.	110
4.4	Schéma des facteurs de modifications de la matière organique lors de son passage dans les sols et le substrat géologique avant incorporation dans les spéléothèmes.	115
4.5	Principaux phénomènes optiques impliqués dans la fluorescence d'un solide. . . .	119
4.6	Schéma du montage du MUESLI (Muesli Uses Emission Spectrofluorescence for Line scanning and Imaging).	122
4.7	Correction du rendement du CCD appliquée aux spectres d'émission mesurés. . . .	123
4.8	Exemple d'un background enregistré avant mesure.	124
4.9	Exemple d'un ajustement de spectre à partir d'un spectre d'émission moyen à 266 nm.	125
4.10	Schéma synthétisant les différentes étapes du traitement des données de fluorescence en phase solide.	127
4.11	Stalagmites utilisées pour le développement de la méthode de quantification de la mesure de fluorescence en phase solide.	129
4.12	Relation entre l'intensité de fluorescence des extraits à l'eau (QSU) et la quantité de carbone organique total (mg/L) des échantillons de sols. . . .	131
4.13	Fluorescence efficaces (ua) des échantillons de sol et des stalagmites incluant les échantillons TAM-x prélevés avec un pas de 2 mm.	132
4.14	Relation entre les estimations de COT (mg C/g calcite) et les intensité de fluorescence en phase solide au cours du temps pour la stalagmite TAM. . . .	133
4.15	Relation entre l'intensité de fluorescence et l'absorbance pour les extraits de sols et les extraits de spéléothèmes.	136
4.16	Relation entre le COT estimé et le COT prédit à partir du modèle non linéaire.	136
4.17	Carte des concentrations en COT prédites à partir du modèle non linéaire et des incertitudes associées à la prédiction.	137
4.18	Spectres moyens mesurés à une excitation de 266 nm et de 325 nm pour tous les spéléothèmes du réseau Garde-Cavale et spectres moyens simulés avec différentes fonctions log-normales.	139
4.19	Cartes A, B et C des coefficients de variations pour les 3 stalagmites étudiées, respectivement GC-09B, GC-13A et GC-13B.	140

4.20	Résultats des tests préalables à l'utilisation du modèle PARAFAC afin de choisir le nombre de composantes adéquat.	146
4.21	Résultats de test du modèle PARAFAC avec différents paramètres.	147
4.22	Cartes d'intensités de fluorescence de chaque fluorophore déterminés à partir de l'ajustement des spectres de l'échantillon GC-09B à 266 nm d'excitation.	151
4.23	Schéma explicatif de la méthode de construction des profils de fluorescence à partir des cartes de fluorescence.	152
4.24	Comparaison des profils obtenus avec une moyenne simple par profondeur et moyenne réalisée après sélection et rotation.	154
4.25	Signal moyen d'intensité de la réflectance IR le long de l'échantillon.	156
5.1	Évolution des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés.	163
5.2	Signal composite des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite au cours du temps construit à partir des échantillons GC-09B et GC-13B.	164
5.3	Évolution des valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés.	165
5.4	Évolution des valeurs de l'intensité de fluorescence du pic F1 à 266 nm d'excitation, corrigées de la réflectance IR, au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés.	167
5.5	Signal d'intensité de fluorescence totale reconstruit à partir des variations d'intensité des spéléothèmes GC-09B et GC-13B pour la période de recouvrement des échantillons.	168
5.6	Évolution des valeurs de l'intensité de fluorescence de la réflectance IR à 266 nm d'excitation au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés.	169
5.7	Évolution des valeurs du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés.	170
5.8	Tests de différents paramètres analytiques des analyses en core-scanner XRF pour optimiser la mesure des éléments trace dans les spéléothèmes.	171
5.9	Tests de réplification spatiale (pas latéral de 6 mm) des mesures des éléments trace par core-scanner XRF.	172
5.10	Évolution de différents indicateurs en fonction du temps (ka B.P.) sur les 5500 dernières années.	174
5.11	Schéma représentant les différents processus pouvant influencer les variations du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes.	178
5.12	Valeurs mensuelle pondérée du $\delta^{18}\text{O}$ des pluies en fonction de la température de l'air à la station IAEA de Thonon-les-Bains.	179
5.13	Comparaison des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des enregistrements composites des stalagmites de Spannagel et de Garde-Cavale sur toute la période Holocène.	185
5.14	Schéma d'hypothèses des flux d'eau hivernaux à la Salle du Précieux et leurs impacts supposés sur la valeur du $\delta^{18}\text{O}$ des eaux d'écoulement en fonction des changements de température ou d'occupation des sols.	189

5.15	Comparaison des indicateurs climatiques et environnementaux enregistrés dans les spéléothèmes de Garde-Cavale et plusieurs proxies climatiques d'archives locales sur les derniers 6000 ans.	194
5.16	Comparaison des indicateurs climatiques et environnementaux enregistrés dans les spéléothèmes de Garde-Cavale avec des indicateurs des modifications environnementales locales sur les derniers 6000 ans.	199
5.17	Schéma de synthèse des forçages influençant le signal des indicateurs utilisés dans l'interprétation paléoenvironnementale des spéléothèmes de Garde-Cavale.	205

CHAPITRE 1

Introduction générale

1.1 Paléoclimat

Depuis 1950, les changements climatiques observés sont sans précédent depuis des décennies, voire des millénaires (IPCC, 2014). L'une des composantes essentielle à la compréhension des changements climatiques est la **paléoclimatologie**. Elle représente la science des climats passés, ayant pour but de reconstituer leurs paramètres, dater les changements de ces paramètres, et comprendre les mécanismes les influençant (Foucault, 2009; Cronin, 2013). Les informations climatiques passées peuvent être enregistrées dans des **archives naturelles**, biologiques et géologiques. Celles-ci contiennent des **indicateurs paléoclimatiques** ou **proxies** dont la corrélation à un ou plusieurs paramètres climatiques permet de reconstruire la variabilité climatique passée (Foucault, 2009).

L'intérêt des études paléoclimatiques est qu'elles intègrent une dimension temporelle au changement climatique. Plus particulièrement, elles permettent d'appréhender plusieurs questions clés dans la compréhension du climat (Cronin, 2013) :

- quels sont les changements climatiques abrupts caractérisant l'histoire climatique de la Terre, non visibles dans le climat présent ? Quels mécanismes expliquent ces changements ?
- à quel point le climat est-il sensible aux variations de différents facteurs externes et internes ? Quel est le temps de réponse du climat à ces forçages ?
- dans quelle mesure les activités humaines influencent-elles le climat ? quels sont les changements climatiques influencés par ces activités ?
- les modèles sont-ils représentatifs des variations climatiques à l'échelle souhaitée ? Font-ils intervenir les bons forçages ?

Ces questionnements se complètent pour améliorer la compréhension de la variabilité climatique passée et des mécanismes de contrôle, permettant ainsi une prédiction des climats futurs en réponse au changement climatique actuel.

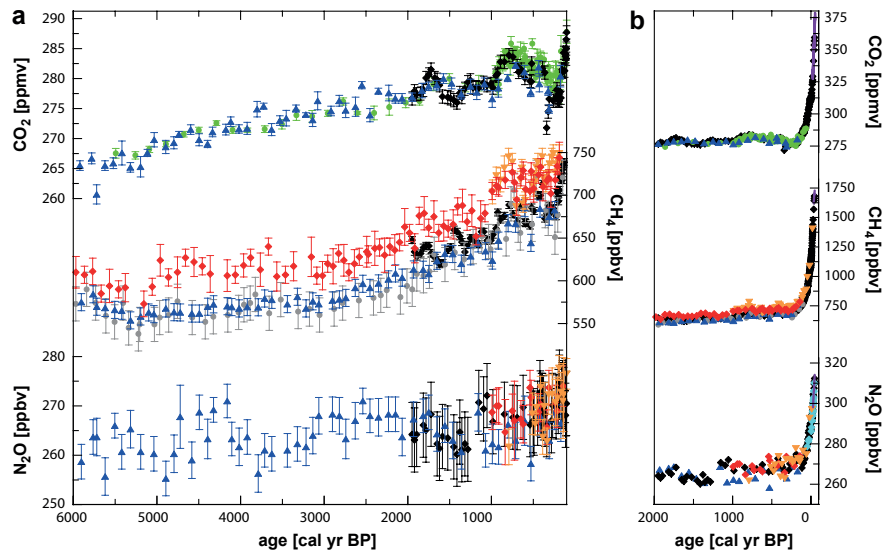


Figure 1.1 – Variations des concentrations des gaz à effet de serre (GES, CO₂, CH₄ et N₂O) sur les derniers 6000 ans et leur reproductibilité analytique (a). Augmentation rapide de la teneur en GES après 1750 due au forçage anthropique (b). Dans [Wanner et al. \(2008\)](#). Les données proviennent de mesures dans des carottes glaciaires et des échantillons de glace et d'air et sont décrites dans l'article.

1.2 L'environnement au centre des interactions Homme-Climat

Les interactions entre l'Homme et l'Environnement sont aujourd'hui considérées comme le facteur principal expliquant le changement climatique observé depuis l'ère pré-industrielle (figure 1.1, [IPCC, 2014](#)). Les émissions de gaz à effet de serre (GES : CO₂, CH₄, N₂O), ainsi que la perturbation du cycle du carbone à travers la dégradation des sols et du couvert végétal, engendrées par les activités anthropiques, représentent un forçage important du climat récent. Estimer la réponse future du climat au forçage anthropique contribue de manière importante au processus décisionnel pour l'adaptation au changement climatique ([Annan et al. , 2005](#)). Cependant, pour comprendre les relations futures entre l'environnement, les sociétés humaines et le changement global, il est essentiel d'identifier les interactions passées entre les activités humaines et l'environnement, et leur rétroaction sur la variabilité climatique ([Arnaud et al. , 2012](#); [Simonneau et al. , 2013](#)).

L'évolution de l'environnement au cours du temps est liée à la variabilité climatique ([Gaillard et al. , 2010](#); [Duplessy & Ramstein, 2013](#)) et peut, à l'inverse, exercer des rétroactions sur le climat (figure 1.2). L'interaction de ces dernières peut ainsi modifier l'amplitude des changements climatiques ([Wramneby et al. , 2010](#)). Les modifications du couvert végétal influencent le climat à travers des rétroactions biogéophysiques et biogéochimiques. Dans le premier cas, la végétation modifie l'albédo, l'évapotranspiration, la rugosité de sur-

face, et la contribution des flux de chaleur sensible et latente (ex. [Brovkin et al. , 2004](#); [Sitch et al. , 2005](#); [Wohlfahrt et al. , 2004](#); [Gaillard et al. , 2010](#); [Wramneby et al. , 2010](#); [Duplessy & Ramstein, 2013](#)). L'albédo de la végétation, comparativement inférieur à celui d'un sol nu (respectivement 10-15% contre 35%), exerce une rétroaction importante sur le climat ([Duplessy & Ramstein, 2013](#)). [Wohlfahrt et al. \(2004\)](#), par exemple, expliquent la réponse climatique au forçage orbital à haute et moyenne latitudes durant le milieu de l'Holocène par la synergie des rétroactions océaniques et végétales, amplifiant le contraste saisonnier des précipitations. Les rétroactions liées au cycle biogéochimique affectent la composition atmosphérique à travers la balance entre le rôle de source et de puits des écosystèmes terrestres pour les GES, aérosols ou encore polluants, influençant ainsi le climat ([Brovkin et al. , 2004](#); [Gaillard et al. , 2010](#)).

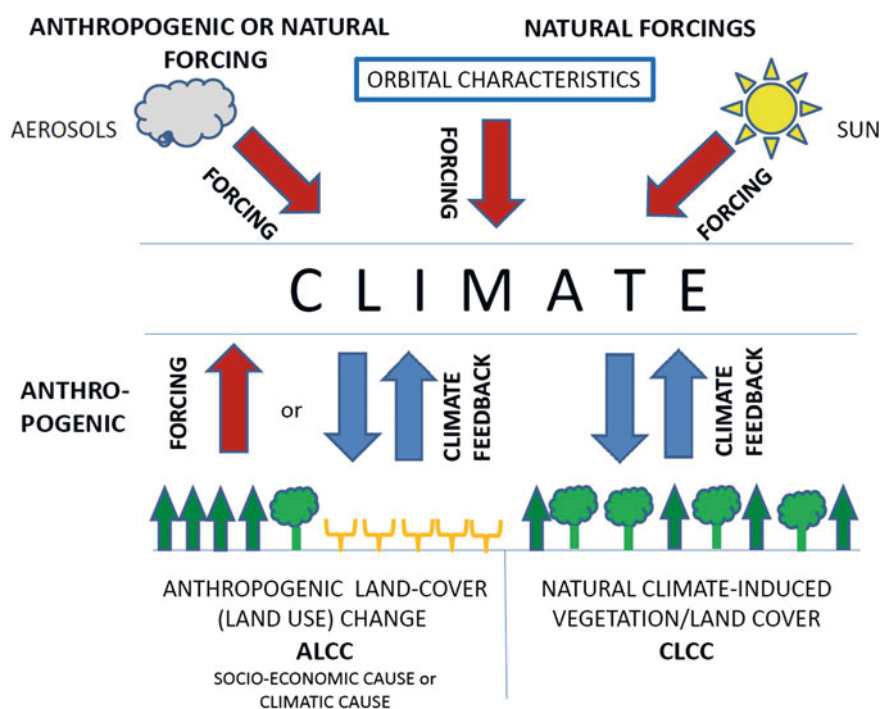


Figure 1.2 – Schéma des interactions entre l'occupation des sols et le climat : effets biogéochimiques et biogéophysiques des changements d'occupation des sols sous forçage climatique et anthropique et leurs rétroactions sur le climat ([Gaillard et al. , 2015](#)). CLCC = climate-induced land cover change et ALCC = anthropic-induced land cover change.

Les activités anthropiques peuvent affecter les conditions climatiques principalement en altérant la composition atmosphérique en GES (Davin *et al.* , 2007). Cependant, la conversion des écosystèmes naturels en systèmes anthropiques influence également le climat en modifiant les rétroactions biogéophysiques et biogéochimiques exercées sur celui-ci (Brovkin *et al.* , 2004; Davin *et al.* , 2007). La déforestation dans les régions tempérées et boréales de l'Hémisphère Nord entraîne, par exemple, une augmentation de l'albédo durant l'hiver et par conséquent un refroidissement (Ganopolski *et al.* , 2001). Les cycles biogéochimiques sont également perturbés par le changement d'occupation des sols. Prentice *et al.* (2001) expliquent que 10 à 30 % du total des émissions anthropiques de CO₂ sont causées par les changements d'occupation des sols. La conversion des forêts en pâtures ou cultures par exemple, entraîne ainsi une émission directe de CO₂ dans l'atmosphère (Sitch *et al.* , 2005). Les changements d'occupation des sols entraînent également des modifications du cycle du carbone dans les écosystèmes.

Le changement d'occupation des sols sous influence anthropique est parmi les rares forçages du climat dont l'effet de réchauffement ou de refroidissement n'est pas clairement identifié (Pongratz *et al.* , 2010). Les rétroactions entre le climat et le cycle du carbone sont des questions clés actuellement (ex. Sitch *et al.* , 2005; MacDougall *et al.* , 2012; Zhou *et al.* , 2012; Friedlingstein *et al.* , 2014; Willeit *et al.* , 2014). Il est donc primordial d'identifier et comprendre les interactions entre l'Homme, le climat et l'environnement passé. Les enregistrements à long-terme des changements passés de la végétation et des écosystèmes terrestres en général sont cependant limités (Gaillard *et al.* , 2010), et des enregistrements paléoclimatiques permettant de reconstruire les changements environnementaux liés aux variations climatiques et anthropiques sont nécessaires.

1.3 Sensibilité des milieux de montagne

Les environnements de montagne sont particulièrement vulnérables au changement climatique (Beniston *et al.* , 1996; Theurillat & Guisan, 2001; Beniston, 2006; Engler *et al.* , 2011). En effet, le climat change rapidement avec l'altitude sur des distances horizontales relativement courtes impliquant des changements de végétation et d'hydrologie. Par conséquent, les montagnes présentent une forte biodiversité, caractérisée par des transitions abruptes dans les séquences de végétation, et de sols (Beniston, 2003). Elles représentent alors une région unique pour la détection du changement climatique et l'évaluation des impacts de ce dernier.

Les effets du changement climatique sur les espèces végétales, par exemple, ont déjà été enregistrés dans plusieurs chaînes de montagne, et notamment dans les Alpes (Engler *et al.* , 2011). Les écosystèmes de montagne ont développé une adaptation à l'altitude et sont souvent endémiques (Beniston, 2006). Comme le climat exerce un contrôle fondamental sur les processus physiques, chimiques et biologiques, un changement climatique peut entraîner le déséquilibre, voir la disparition de ces écosystèmes. Cette sensibilité particulière des milieux de montagne a d'importants impacts écologiques mais également économiques

(Theurillat *et al.* , 1998). La montagne représente en effet une ressource économique (utilisation pour l'eau, la sylviculture, ou les loisirs) qui pourrait être fortement impactée par une modification du climat. Par exemple, les changements projetés de température et de précipitation pourraient aussi entraîner une réduction des espèces arborées ayant une grande valeur économique comme *Picea abies* ou *Pinus sylvestris* au profit de l'expansion de plus d'espèces adaptées à la sécheresse mais moins recherchées, entraînant une perte économique de plusieurs centaines de milliards d'euros pour l'industrie du bois en Europe (Hanewinkel *et al.* , 2013).

Les écosystèmes de montagne sont sous influence anthropique au moins depuis le Néolithique dans les Alpes européennes par exemple. Les activités anthropiques, qui incluent aussi bien la déforestation, le sur-pâturage ou la mise en culture de sols marginaux, entraînent une modification de l'environnement en montagne et de son fonctionnement (Beniston, 2003). Ces écosystèmes sont dès lors sensibles à l'érosion des sols, aux glissements de terrain ou à la perte d'habitats et de biodiversité (Beniston, 2003). Ainsi, dans les Alpes européennes, l'usage des sols a été un important facteur de contrôle de la dynamique de la végétation (Schwörer *et al.* , 2014). L'intégration des facteurs anthropiques dans la dynamique environnementale entraîne une modification de la réponse des environnements aux changements climatiques. L'utilisation des sols est alors un facteur très important pouvant accélérer ou contrebalancer la réponse des écosystèmes au changement climatique (Theurillat & Guisan, 2001).

Les écosystèmes de montagne constituent des systèmes "ressource" ayant une grande importance écologique comme économique. Ils sont cependant très sensibles aux changements climatiques et représentent donc une aire d'étude idéale pour comprendre les réponses de l'environnement aux changements climatiques passés ainsi qu'à la pression anthropique.

1.4 Le sol, témoin des changements environnementaux

L'histoire des environnements de montagne peut être approchée par l'histoire des sols. L'évolution des sols est en effet soumise à un couplage d'évènements ponctuels (disparition de la végétation par le feu, changement d'usage des sols par exemple) et d'évènements progressifs (succession végétale, changements climatiques par exemple). L'histoire des sols est donc une réponse de ces derniers aux changements climatiques et environnementaux ainsi qu'à des évènements brutaux, comme les impacts des activités anthropiques. Il offrent donc une image du couplage des forçages Homme-Climat sur l'environnement.

Cette histoire s'observe à travers des phases de progression et de régression des processus pédogénétiques dans le temps (Sommer *et al.* , 2008). Ainsi, les sols de l'étage subalpin dans les Alpes durant l'Holocène par exemple présentent une phase pédogénétique progressive avec un développement du sol associé à une forte altération des roches (figure 1.3; Egli *et al.* , 2003; Mourier *et al.* , 2010; Egli & Poulénard, 2016) suivi d'un

état pseudo-stable sous couvert forestier. Cet état est suivi d'un point de rupture faisant basculer les processus pédogénétiques dans une phase régressive, datée entre 5000 et 2500 ans B.P. selon le climat et l'impact anthropique, d'après des études basées sur des sédiments lacustres (Mourier *et al.* , 2010; Giguët-Covex *et al.* , 2011; Brisset *et al.* , 2013; Bajard *et al.* , 2015). Les forçages de l'évolution des sols par la suite sont un couplage des impacts anthropiques et de l'influence climatique, impliquant une poursuite de la phase de régression, ou un à plusieurs basculements vers une phase de progression. Dans certains cas, la phase régressive est suivie par une nouvelle phase progressive induite par exemple par la diminution de la pression pastorale.

Par ailleurs, cette "histoire" est enregistrée dans les sols, soit dans certains éléments (organiques et inorganiques) conservés dans les sols jusqu'à plusieurs milliers d'années, soit dans les modes d'organisation des volumes pédologiques (Pomel, 2008). Les sols se présentent alors sous forme de deux types d'enregistrement différents (Poulenard *et al.* , 2015) :

- les sols "**archives**" (A, figure 1.4) ;
- les sols "**palimpsestes**" (B, figure 1.4).

Le premier cas correspond aux **paléosols** enfouis et fossilisés, les sols les plus étudiés en contexte paléopédologique (Schaetzl & Anderson, 2007). Leur date d'enfouissement peut être estimée et ils renseignent alors sur les conditions climatiques et environnementales passées ayant conduit à la formation, l'enfouissement ou l'érosion de ces paléosols (Schaetzl & Anderson, 2007). Cependant, ces archives sont spécifiques à certaines conditions permettant l'enfouissement des sols (dépôts éoliens ou milieux volcaniques par exemple) et sont généralement discontinues (Schaetzl & Anderson, 2007), c'est-à-dire qu'elles ne renseignent que sur les phases enfouies, sans indication sur les périodes entre ces phases. Il n'y a donc pas d'enregistrement continu de la réponse des sols aux variations climatiques et environnementales.

Le second cas est une analogie aux palimpsestes. Ces derniers sont des parchemins manuscrits dont on a effacé la première écriture pour pouvoir écrire un nouveau texte. Cette analogie fait référence à l'intégration et au mélange des composés informatifs au sein des sols (Schaetzl & Anderson, 2007; Poulenard *et al.* , 2015). Ainsi ces derniers contiennent des éléments d'information témoignant de différentes périodes de l'évolution du sol stockés de manière non stratigraphiée (Schwartz *et al.* , 2005; Schwartz, 2012). De même que pour le paléographe, l'étude de ces éléments nécessite de révéler les traces des sols passés coexistant dans les sols actuels.

Ainsi, Schwartz (2012) souligne que les dynamiques temporelles ne peuvent être appréhendées de la même manière pour tous les constituants du sol du fait de leurs dynamiques spécifiques dans le sol. Il existe différents types de proxies définis en fonction de leur dynamique dans les sols fonctionnels (Schwartz, 2012) : transitoires, cumulatifs ou

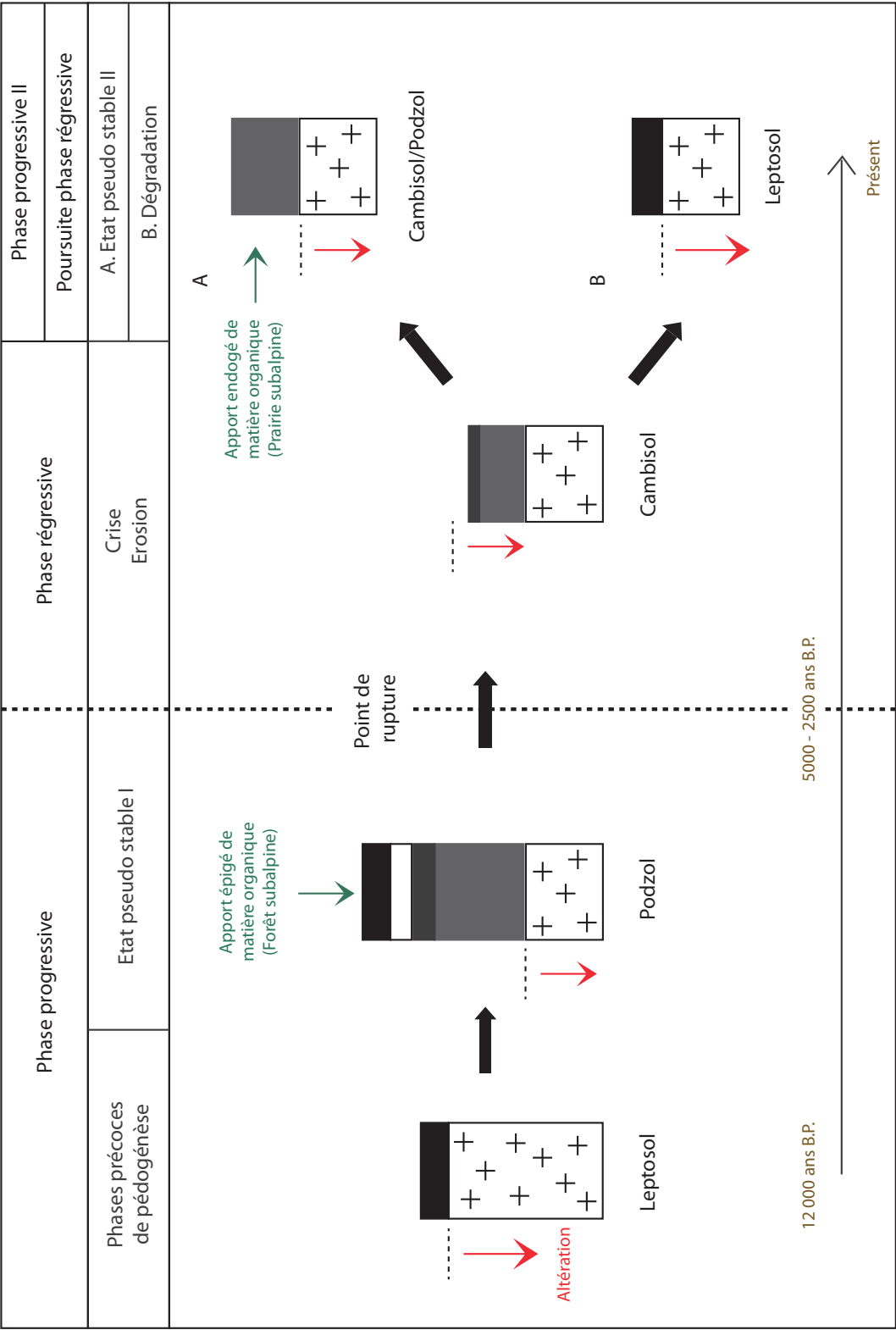


Figure 1.3 – Schéma conceptuel de l'évolution des sols à l'étage subalpin pendant l'Holocène d'après Poulénard *et al.* (2015), construit à partir des résultats d'analyses de sédiments de lacs de Mourier *et al.* (2010); Giguet-Covex *et al.* (2011); Brisset *et al.* (2013); Bajard *et al.* (2015).

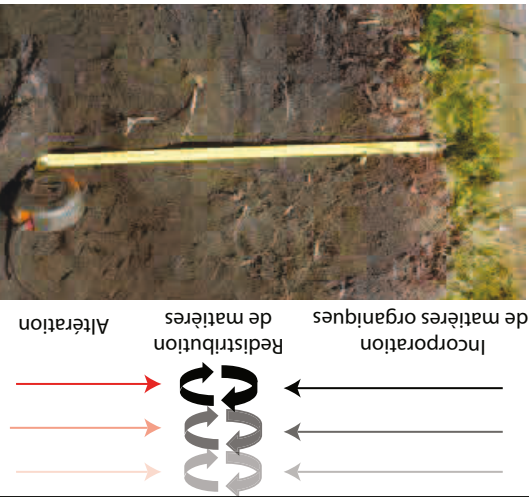
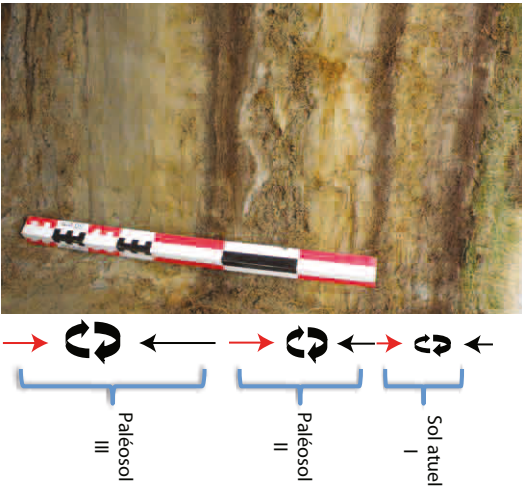
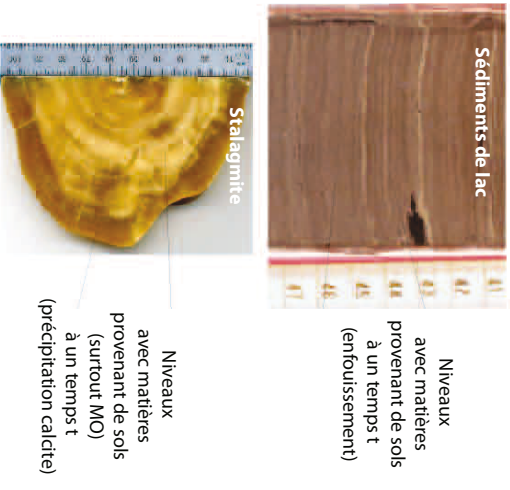
A. SOLS-PALIMPSESTES	B. SOLS-ARCHIVES	C. ARCHIVES CONTENANT DES INFORMATIONS PEDOLOGIQUES
 <p>Pédogénèses anciennes masquées</p> <p>Archivage de « traits pédologiques » du passé (anciens climats, anciennes végétations, anciens usages...) en mélange et non stratifié</p> <p>Stratégie d'étude</p> <p>Recherche de « pédosignatures » (d'état et des usages des sols) des sols passés conservables dans les sols eux-mêmes</p> <p>Avantages/Inconvénients</p> <ul style="list-style-type: none"> - essentiel des situations - archivages internes - difficulté pour dater les phases et les événements - mélange entre les phases 	 <p>Pédogénèses anciennes superposées</p> <p>Archivage de « traits pédologiques » du passé (anciens climats, anciennes végétations, anciens usages...) stratifiés sur horizons enfouis fossilisés</p> <p>Stratégie d'étude</p> <p>Description de « traits pédologiques » spécifique des paléosols</p> <p>Avantages/Inconvénients</p> <ul style="list-style-type: none"> - archivages internes - successions datables - situations particulières - phases discontinues 	 <p>Exportations des sols du passé archivées</p> <p>Archivage de « traits pédologiques » du passé (anciens sols, anciens climats, anciennes végétations, anciens usages...) stratifiés sur horizons enfouis fossilisés</p> <p>Stratégie d'étude</p> <p>Recherche de « pédosignatures » (d'état et des usages des sols à un instant t) exportables et conservables dans les sédiments et les stalagmites</p> <p>Avantages/Inconvénients</p> <ul style="list-style-type: none"> - datable à haute résolution - en continu - archivages externes - situations particulières - mélange avec des produits non pédologiques

Figure 1.4 — Différents types de stratégies d'étude de l'histoire des sols (Poulenard *et al.*, 2015).

évènementiels. Ces indicateurs ou proxies sont associés à des paramètres climatiques et environnementaux spécifiques, renseignant ainsi sur le climat et l'environnement passés. Ils peuvent correspondre à des éléments organiques ou inorganiques. Outre les pollens, très largement utilisés, un nombre croissant de composés organiques est développé pour les reconstructions environnementales. Ainsi les charbons, les lipides, les lignines, l'ADN, la fluorescence UV ou infrarouge de la matière organique, le ^{13}C ou le ^{15}N de la matière organique (Ertlen, 2009) permettent de reconstruire les changements de végétation ou les modifications du cycle biogéochimique du carbone et de l'azote influencés par les variations climatiques ou l'impact anthropique.

Cependant, la discontinuité de l'enregistrement peut représenter un frein à l'interprétation de l'histoire des sols. La paléopédologie se développe donc également sur la base d'autres archives naturelles. Un certain nombre d'objets naturels comme les sédiments lacustres ou les spéléothèmes reçoivent et conservent au cours du temps des substances issues de la couverture pédologique. Ces archives présentent l'avantage de produire un enregistrement continu et datable, permettant ainsi de donner un cadre chronologique aux informations pédologiques reçues.

En revanche, les éléments provenant du sol ne représentent qu'une part plus ou moins faible des constituants de ces archives. Ceci nécessite l'identification d'éléments-cibles permettant de remonter à une information environnementale, et à des paramètres climatiques ou anthropiques contrôlant ces éléments. Des paramètres liés à la conservation, le transport ou l'incorporation des éléments dans l'archive peuvent cependant interférer avec les forçages externes. Si certaines techniques permettent déjà d'obtenir des résultats très prometteurs (ex. Ertlen, 2009; Giguët-Covex *et al.*, 2014; Ertlen *et al.*, 2015; Wiesenberger *et al.*, 2015), le développement de ces proxies dans les archives pédologiques reste un objectif essentiel dans la compréhension des modifications de l'environnement.

1.5 Les spéléothèmes : des archives pédologiques

En plus de leur qualité d'archive paléoclimatique, les spéléothèmes peuvent être considérés comme une archive pédologique. En effet, ils sont constitués de carbonates dont le carbone est principalement issu du sol. Des études sur le ^{14}C des échantillons modernes ont montré que le carbone des carbonates provient à 80-90% du CO_2 du sol (Genty & Massault, 1999; Genty *et al.*, 2001; Griffiths *et al.*, 2012; Hua *et al.*, 2012). Celui-ci est majoritairement influencé par le CO_2 atmosphérique ainsi que par les processus pédologiques; ces derniers étant généralement considérés comme prépondérants (Cosford *et al.*, 2009). Le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite est influencé par les facteurs de contrôle du CO_2 du sol et a ainsi été associé à un changement de végétation entre des plantes C3-C4 (Dorale *et al.*, 1998; Denniston *et al.*, 2001), une modification de l'activité microbienne et du couvert végétal (ex. Genty *et al.*, 2003; Baldini *et al.*, 2005; Genty *et al.*, 2006; Cosford *et al.*, 2009) ou de la contribution du CO_2 en provenance du sol (Genty *et al.*, 2003).

Cependant, le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite est également influencé par des processus inorganiques comme la contribution de l'encaissant, le degré d'ouverture du système, les dégazages de CO_2 au cours du trajet dans le système karstique ou le fractionnement lié à la précipitation de la calcite (Baker *et al.* , 1997a; Fairchild *et al.* , 2006; Couchoud, 2008a), contrôlés en grande partie par les flux hydrologiques et la ventilation dans la cavité (ex. Baker *et al.* , 1997a; Williams *et al.* , 2004; Spötl *et al.* , 2005; Matthey *et al.* , 2008; Tremaine *et al.* , 2011). La grande variété de facteurs de contrôle s'exerçant sur le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite ainsi que l'échelle de temps de réponse spécifique du signal de $\delta^{13}\text{C}$ à ces facteurs rend donc difficile l'interprétation de ce signal dans un contexte paléoenvironnemental (ex. Cosford *et al.* , 2009; Baker *et al.* , 2011; Blyth *et al.* , 2013). Si certains d'entre eux comme le fractionnement cinétique peuvent être testés par comparaison avec d'autres proxies, les autres facteurs, et particulièrement ceux affectant le signal de CO_2 du sol sont difficiles à distinguer (Blyth *et al.* , 2013).

Un second pool de carbone est contenu dans les spéléothèmes. Il s'agit de la matière organique piégée entre ou dans les cristaux de calcite (Ramseyer *et al.* , 1997), apportée avec les eaux d'alimentation depuis les sols. Ce pool organique est resté peu exploité mais a récemment fait l'objet d'un intérêt croissant, notamment avec la découverte de la fluorescence de la matière organique des spéléothèmes (White & Brennan, 1989; Baker *et al.* , 1993; Shopov *et al.* , 1994) et la reconstruction d'enregistrements polliniques fiables (Brook *et al.* , 1990; McGarry & Caseldine, 2004; Caseldine *et al.* , 2008). Les avancées technologiques en biogéochimie ont permis plus récemment le développement de plusieurs nouveaux indicateurs organiques. Ainsi, il est aujourd'hui possible d'utiliser des indicateurs relatifs à la matière organique totale (fluorescence, $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique) et des indicateurs de certains composés organiques spécifiques (lipides, acides aminés, lignines, hydrocarbures aromatiques polycycliques). Les indicateurs moléculaires permettent d'obtenir des informations paléoenvironnementales ayant un degré d'information élevée. Cependant, ces analyses présentent l'inconvénient :

- d'être peu résolues temporellement (entre 5 et 20 g de matériel sont nécessaires pour les analyses lipidiques dans Blyth & Schouten, 2013 par exemple) ;
- d'être sensibles aux contaminations (Wynn & Brocks, 2014 ont montré qu'une grande partie des biomarqueurs extraits des spéléothèmes pouvaient être d'origine exogène, c'est-à-dire liés à une pollution organique lors de la manipulation, du stockage des échantillons ou lors des procédures analytiques) ;
- d'utiliser des composés dont la dynamique entre les sols et le système karstique reste encore méconnue.

Les traceurs organiques des spéléothèmes représentent un potentiel indéniable pour les reconstructions paléoenvironnementales. Certains proxies, et notamment la fluorescence de la matière organique, permettent d'obtenir un enregistrement haute-résolution mais

restent peu informatifs. En revanche, les proxies émergents et notamment les proxies moléculaires, apportent un degré d'information très poussé mais dont l'utilisation procure un enregistrement basse résolution, du fait de la quantité de matériel importante nécessaire aux techniques analytiques actuelles. L'interprétation de ces proxies est aujourd'hui encore très complexe et nécessiterait de tester leur robustesse et d'identifier les paramètres environnementaux parmi les différents facteurs de contrôle de ces proxies.

1.6 Problématique

Pour comprendre les interactions Climat-Homme-Environnement, paramètre essentiel des projections des changements climatiques futurs, l'étude du paléoenvironnement constitue une démarche fondamentale. Les milieux de montagne représentent un espace d'étude préférentiel au regard de leur sensibilité importante au changement climatique. Pour comprendre l'évolution de ces milieux au cours du temps, les archives pédologiques sont un outil primordial. Ainsi, celles recouvrant l'Holocène sont particulièrement appropriées à l'identification et la distinction des différents forçages influençant l'histoire des sols, dont les variations sont liées aux impacts climatiques et anthropiques. Les spéléothèmes représentent une archive climatique, mais également pédologique, permettant un enregistrement de l'histoire des sols avec une importante résolution temporelle, grâce aux différents composés organiques constituant la matrice cristalline ou piégée dans cette dernière. Cette étude a pour but de **reconstruire l'histoire environnementale à partir de celle des sols, en utilisant des proxies organiques dans les spéléothèmes. Cette reconstruction vise à identifier les différents forçages climatiques et anthropiques ayant influencé l'environnement durant la période Holocène, et la réponse de ce dernier à ces forçages.**

Cependant, l'utilisation des proxies organiques dans les spéléothèmes, excepté pour le $\delta^{13}\text{C}$, est encore peu développée en comparaison des proxies inorganiques paléoclimatiques, et notamment du $\delta^{18}\text{O}$. Il en résulte une méconnaissance des facteurs contrôlant ces proxies, et des méthodes analytiques dont le développement reste nécessaire. Ces proxies sont donc encore actuellement difficiles à interpréter en terme de paléoenvironnement. C'est pourquoi, afin de répondre à l'objectif cité précédemment, cette étude se base sur un travail expérimental afin de répondre aux questions suivantes (figure 1.5) :

- le couplage de plusieurs proxies organiques basse résolution/très informatifs avec des proxies haute-résolution/pau informatifs permet-il d'obtenir des proxies robustes et de faire converger leur interprétation pour extraire l'information paléoenvironnementale ?
- cette information permet-elle de reconstruire l'histoire des sols à haute-résolution ?
- est-il possible d'identifier les forçages climatiques et anthropiques sur l'environnement et sa réponse à ces derniers à partir de cet enregistrement haute-résolution ?

Pour répondre à ces questions, cette thèse s'articule autour de trois points abordés dans les chapitres suivants :

- Le chapitre 2 présente le site d'étude et les différentes archives utilisées.
- Le chapitre 3 concerne le développement méthodologique de plusieurs proxies organiques émergents. Ces proxies ont été couplés dans le but de tester leur robustesse et de faire converger leurs interprétations avec celles de proxies organiques plus "courants" mais moins informatifs (fluorescence et $\delta^{13}\text{C}$). En plus d'un état de l'art sur les différents proxies utilisés, ce chapitre met en lumière les difficultés analytiques liées à leur utilisation.
- Le chapitre 4 est entièrement consacré à la fluorescence de la matière organique dans les spéléothèmes. Après un état des connaissances sur cet indicateur, il décrit le développement méthodologique réalisé pour obtenir un enregistrement paléoenvironnemental quantitatif et haute-résolution.
- Le chapitre 5 s'applique à assembler les différentes données disponibles à partir les spéléothèmes étudiés, et en particulier les proxies organiques afin de reconstruire un signal paléoenvironnemental et d'identifier les forçages impliqués dans les variations de ce signal.

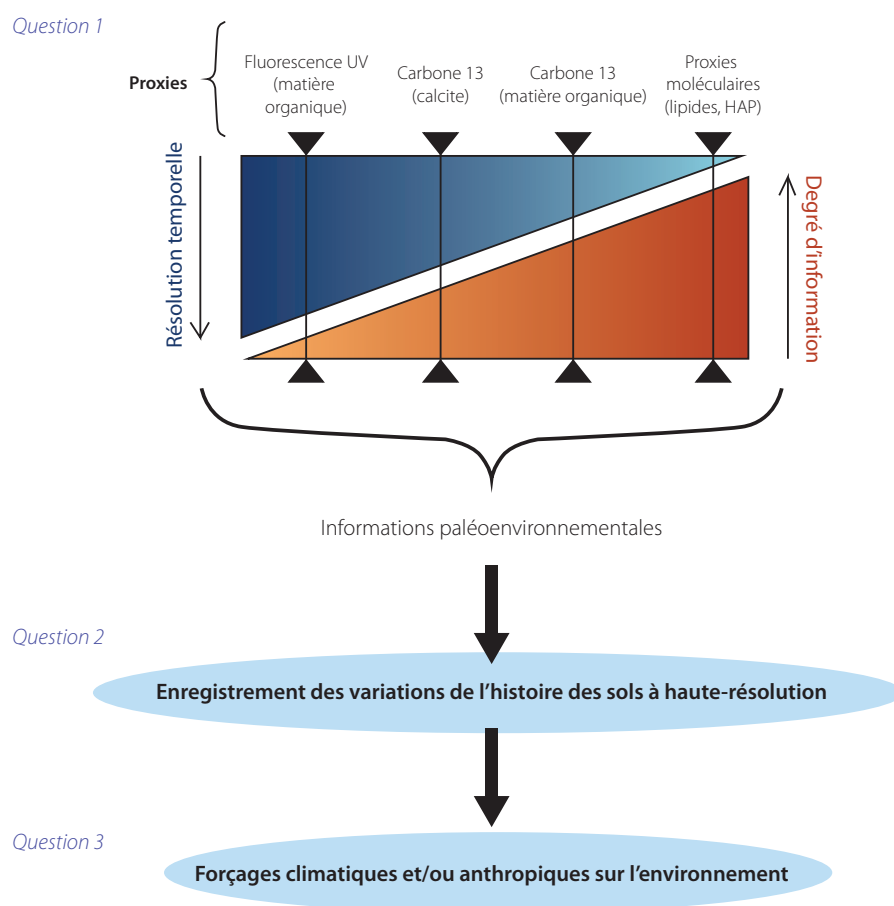


Figure 1.5 – Schéma conceptuel des questions abordées dans cette thèse.

CHAPITRE 2

Contexte de l'étude

Pour répondre à la problématique posée précédemment, il est essentiel de l'aborder via un terrain d'application regroupant les critères suivants :

- un milieu de montagne, réactif aux modifications de l'environnement ;
- un enregistrement à partir de spéléothèmes couvrant au moins les derniers 6000 ans afin d'évaluer l'impact anthropique et discriminer la part du forçage climatique.

2.1 Site d'étude

Les spéléothèmes étudiés ont été prélevés dans le **système karstique de Garde-Cavale** (GC) qui se développe sous le **plateau du Nivolet-Revard ou "plateau de la Féclaz"** (figure 2.1). Ce plateau est situé à une altitude allant de 1300 à 1500 m, sur la bordure occidentale du **massif des Bauges**, dans les Préalpes françaises. Le réseau de Garde-Cavale présente un développement important (48 km de galeries entre 1380 et 1055 m), et fait partie du système de la Doria (réseaux Garde-Cavale + Pleurachat-Doria = 69 km), exutoire actuel drainant la partie centrale et sud du plateau dans les calcaires urgoniens et valanginiens. Une partie du réseau de Garde-Cavale se développe dans la base de la série priabonienne, dans laquelle se trouve une salle "atypique", la **salle du Précieux**. Celle-ci présente un plan circulaire, avec un plafond orné de fistuleuses. Cette salle se situe à proximité de la chapelle de la Féclaz (N45°38'34.0", E005°59'10.5"), contient également plusieurs spéléothèmes. Quatre stalagmites y ont été prélevées dans le cadre de cette étude, en 2009 et en 2013.

2.1.1 Climat des Bauges

Le climat du massif des Bauges se caractérise par un climat montagnard continental, sous l'influence des flux ouest en provenance de l'Atlantique. Il représente la première barrière orographique après le chaînon Jurassien de l'Epine-Chat. La température moyenne annuelle calculée par [Lemordant \(1977\)](#) est de 5,6-5,7°C. Sur la période 2013-2014¹, elle

1. La période 2013-2014 des données météorologiques correspond à la période du 01/01/2013 au 31/12/2014. Ce sont les données Météo-France de la station météorologique de la Féclaz à 1350 m d'altitude (N45°38'48" ; E5°59'00").

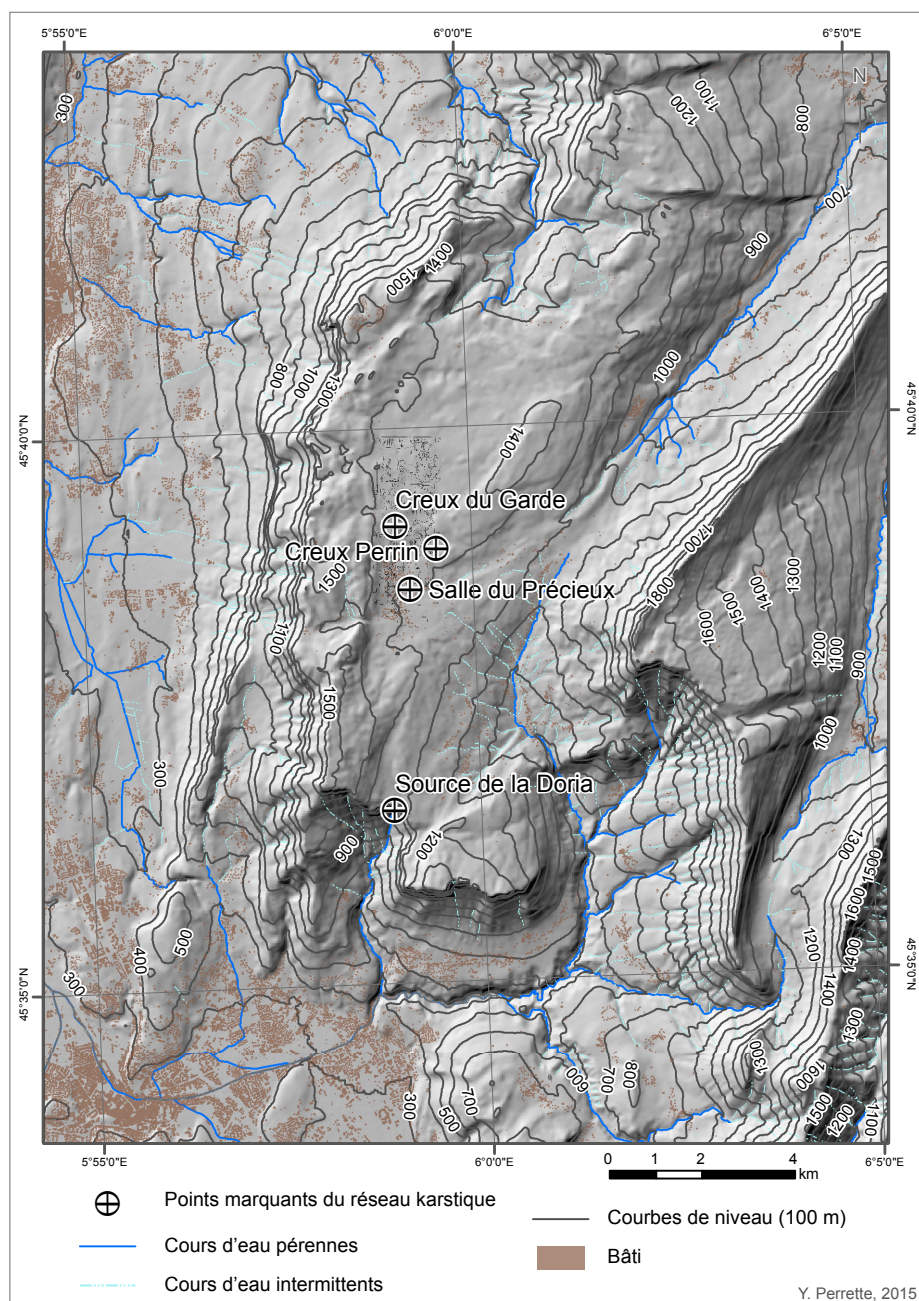


Figure 2.1 – Carte topographique du plateau de la Féclaz localisant les points marquants du réseau karstique de Garde-Cavale et le réseau hydrographique de surface (réalisée par Yves Perrette).

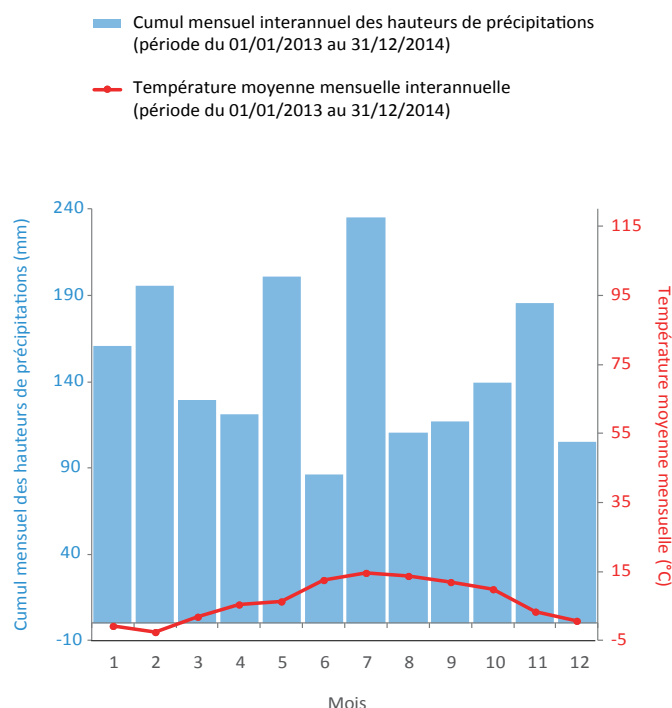


Figure 2.2 – Diagramme ombrothermique présentant les cumuls mensuels interannuels de hauteur d'eau (mm ; bleu) et les températures moyennes mensuelles interannuelles (°C ; rouge). Ces données ont été mesurées entre le 01/01/2013 et le 31/12/2014 à la station Météo-France de la Féclaz (N45°38'48", E5°59'00" ; 1350 m d'altitude).

a été calculée à 6,41°C. Les températures moyennes mensuelles présentent une amplitude de 20°C (entre -5 et 15 °C) pour les données de [Lemordant \(1977\)](#) et les données Météo-France entre 2013 et 2014. Les Bauges sont caractérisées par un gradient thermique altitudinal important de 0,5°C/100m qui explique les températures moyennes faibles ([Hobléa, 1999](#)).

Le taux de précipitation moyen annuel est estimé à 1658 mm/an à 1050 m par [Hobléa \(1999\)](#), 1718 mm/an à 1350 m par [Najib \(2000\)](#) et 1788 mm/an à 1350 m à partir des données Météo-France sur la période 2013-2014. Le diagramme ombrothermique réalisé à partir des données Météo-France de la période 2013-2014 (figure 2.2) montre que tous les mois sont humides, y compris la période estivale, indiquant une évapotranspiration limitée. L'hiver est caractérisé par des précipitations sous forme solide représentant entre 24 à 40% des précipitations annuelles selon les auteurs ([Lemordant, 1977](#); [Najib, 2000](#)). La durée de la couverture nivale au sol varie également selon les auteurs jusqu'à fin mai pour [Lemordant \(1977\)](#) contre courant avril pour [Najib \(2000\)](#). Des mesures de température des sols réalisées par Jérôme Poulenard entre août 2009 et janvier 2012 sur le plateau de

la Féclaz indiquent la présence d'une couverture nivale entre mi-décembre et fin mars - fin avril (figure 2.3).

Ce caractère climatique a une implication dans le fonctionnement hydrologique du système karstique. Les précipitations hivernales sont transférées au système durant une période temporelle limitée, pendant la période de fonte. Celle-ci représente donc une entrée d'eau correspondant à 4 à 6 mois de précipitations. L'été et l'automne ont une pluviométrie similaire au reste de l'année mais la recharge est plus séquencée dans le temps, en réponse aux événements pluvieux. Par ailleurs, les faibles températures associées aux pluviométries estivales importantes suggèrent une faible importance des mécanismes d'évapotranspiration sur la recharge estivale.

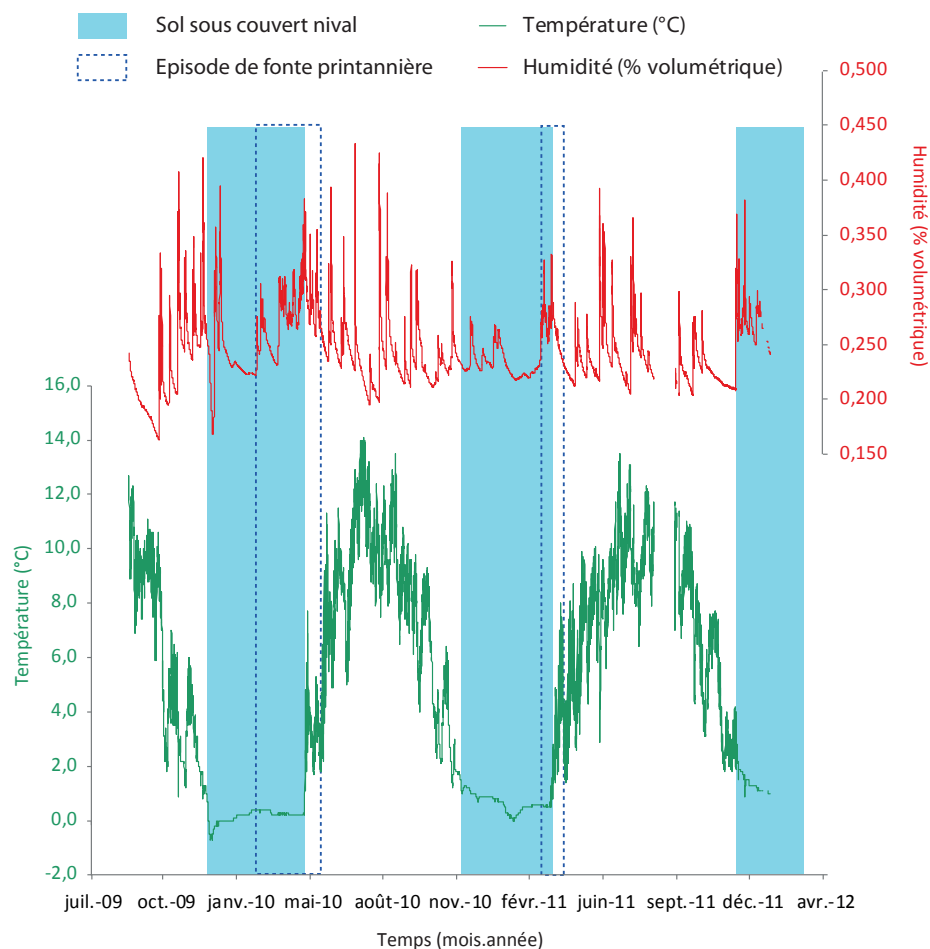


Figure 2.3 – Évolution de la température (courbe bleue) et de l'humidité (courbe rouge) du sol sur le plateau de la Féclaz entre août 2009 et janvier 2012.

2.1.2 Sols et végétation

Le plateau de la Féclaz est caractérisé majoritairement par un couvert forestier (entre 70 et 80% de la superficie totale) composé de forêts d'épicéas et sapins, de forêts de feuillus et de forêts mixtes (hêtraie-pessière principalement). Une partie du plateau est également sous couvert prairial. Les prairies, ainsi que les forêts sont utilisées comme pâture. La Salle du Précieux est située dans une zone prairiale qui représente probablement un pourcentage plus important par rapport à la couverture végétale totale dans l'aire de recharge des écoulements de cette salle (figure 2.6).

Plusieurs types de sols sont observés sur le Plateau de la Féclaz : principalement des Cambisols et des Leptosols foliques (figure 2.4). Les **Leptosols foliques** (WRB, 2006) sont des sols organiques peu développés, se formant directement au contact du calcaire, notamment dans les zones à lapiaz. Ils sont marqués par une grande quantité de matière organique s'accumulant du fait d'une minéralisation très faible et/ou très lente, d'où leur nom d'*organosols* dans le référentiel pédologique (RP, 2008). Bien que sur calcaire, leur horizon organique présente un pH faible (autour de 4,5). Cet horizon est également caractérisé par une forte conductivité hydraulique. Sur le plateau de la Féclaz, on retrouve ces sols majoritairement en contexte forestier.

Les **cambisols** (WRB, 2006) sont des sols présentant plusieurs horizons très développés. La conductivité hydraulique de ces sols diminue avec la profondeur, avec des horizons organo-minéraux perméables près de la surface et des horizons minéraux bien structurés et moins perméables en profondeur. L'horizon A est caractérisé par un turnover rapide de la matière organique (RP, 2008). Ce sol est la résultante d'un processus de brunification d'où leur classification comme *brunisols* dans le Référentiel Pédologique (RP, 2008). Sur le plateau de la Féclaz, ces sols sont observés sous couvert forestier (hêtraie et hêtraie-pessière principalement) et sous couvert prairial. Le pH des Cambisols sous couvert forestier ont été mesurés autour de 6,5 contre 5,5 pour les Cambisols eutriques sous couvert prairial.

Des **Podzols** (WRB, 2006 ou Podzosols dans le Référentiel Pédologique RP, 2008) peuvent également être observés dans les zones où les dépôts tertiaires sont affleurants (grès, figure 2.11), mais ces sols restent peu fréquents. Ils présentent des horizons très différenciés, caractérisés par un transfert de composés organiques solubles complexés avec des métaux depuis les horizons de surface, puis une immobilisation de ces complexes organo-métalliques dans les horizons plus profonds. Un horizon A, acide et riche en matière organique recouvre un horizon éluvial E. Cet horizon cendreux correspond à un horizon résiduel essentiellement quartzeux dû aux processus de migration des complexes organo-métalliques. Ces sols sont caractérisés par la présence d'un horizon Bh défini par une accumulation de produits amorphes constitués de matières organiques et d'aluminium, avec ou non la présence de fer, sous l'horizon E (Duchaufour, 1993; RP, 2008). Comme pour les Cambisols, les horizons superficiels avec une forte conductivité hydraulique recouvrent des horizons

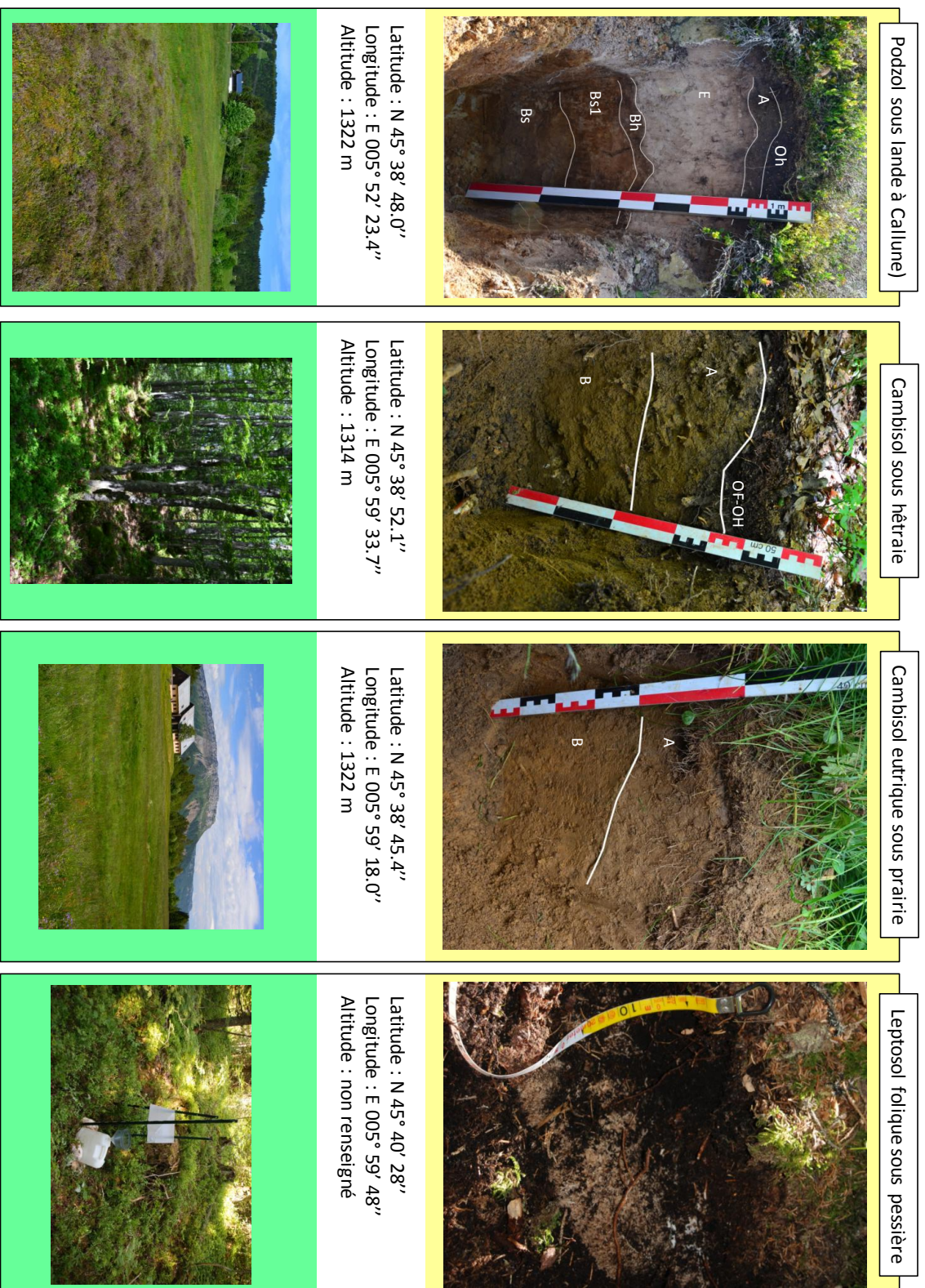


Figure 2.4 – Principaux types de sols et leur couvert végétal associé présents sur le plateau de la Féclaz, caractérisés lors d'une campagne de terrain.

moins perméables. Sur le plateau de la Féclaz ces sols se trouvent plutôt sous des landes à *Calluna vulgaris*. Leur pH est généralement mesuré autour de 4,5.

Au-dessus de la salle du Précieux (N45°38'34.0", E005°59'10.5"), le sol est un Cambisol eutrique prairial (figure 2.5). Un mull prairial se développant sous une *Brometum erecti*² recouvre ainsi un horizon A argilo-limoneux de 15 cm d'épaisseur. Après une transition diffuse, on observe un horizon B limono-argileux puis un horizon (II) Bg argileux présentant des tâches d'hydromorphie après une transition nette. Cette hydromorphie peut refléter la couverture plus ou moins imperméable sur laquelle s'est développé ce sol. Ce caractère est cohérent avec les hypothèses de circulations à l'interface sol-roche suggérées dans la section 2.1.5. Il présente également un niveau à charbons au sein de l'horizon B dont trois échantillons ont été datés au carbone 14. Ce sol indique un turnover relativement rapide de la matière organique dans les horizons de surface (Duchaufour, 1993).



Figure 2.5 – Cambisol eutrique au-dessus de la Salle du Précieux avec les limites des horizons A, B et (II) Bg le caractérisant. Ce sol contient un niveau à charbons au sein de l'horizon B.

2. Prairie dont le groupement végétal est caractérisé par la dominance du Brome dressé (*Bromus erectus*).

2.1.3 Pression anthropique

Le plateau de la Féclaz se caractérise aujourd'hui par son usage centré sur la pratique du ski nordique. Le domaine Savoie - Grand Revard, un des plus importants en France, attire un grand nombre de skieurs : 176 526 journées skieurs vendues en 2011-2012 par exemple ([Belmont, 2013](#)). Il comprend plusieurs stations sur le plateau, dont la station de ski de la Féclaz, un lieu-dit de la commune des Déserts. Ce développement des activités touristiques naît dans les années 20-30 lorsque la bourgeoisie chambérienne commence à fréquenter le plateau ([Gauchon, 2007](#); [Belmont, 2013](#)). Le tourisme est donc très développé sur ce plateau en hiver, mais également en été avec des sites d'accrobranche, des pistes de VTT et la construction récente de pistes de *ski-roue*, activité estivale permettant la pratique du ski de fond (figure 2.7). De ces activités résulte une pression sur l'environnement avec la gestion de la forêt associée au domaine skiable, une forte occupation du plateau en hiver, et une pression liée à l'utilisation de l'eau (consommation d'eau potable, canons à neige), rare sur le plateau du fait de sa karstification.

Outre les activités touristiques, l'environnement sur le plateau de la Féclaz est soumis à un usage pastoral et sylvicole (figure 2.6, 2.7). Les prairies et une partie de la forêt sont utilisées pour le pâturage avec plusieurs exploitations situées actuellement sur le plateau, mais aucune culture permanente n'est présente. Par ailleurs, une partie des forêts est exploitée pour la sylviculture. Récemment, une attaque de scolytes sur les épicéas a engendré une coupe sanitaire importante sur le plateau pour limiter la transmission de la maladie et les risques d'incendies.

D'après les archives historiques (cadastre sarde, cadastre français [Conseil général de la Savoie, 2015](#)), le plateau a été majoritairement utilisé comme une estive. Mis à part quelques cultures vivrières, aucune culture permanente ne semble avoir été développée ([Mouthon, 2009](#)). Cependant, le cadastre sarde datant de 1732 ([Conseil général de la Savoie, 2015](#)) indique que la majeure partie du plateau actuellement sous couvert forestier était à l'époque constituée par des prés. Ceci implique certainement une phase de déforestation importante au Moyen-Âge ou avant. En revanche, le premier cadastre français daté entre 1864 ([Conseil général de la Savoie, 2015](#)) fait état de bois sur la partie forestière actuelle. Excepté quelques informations dans les archives historiques datant du Moyen-Âge, il existe peu d'information sur l'histoire du plateau permettant de reconstituer des informations sur les changements d'occupation des sols.

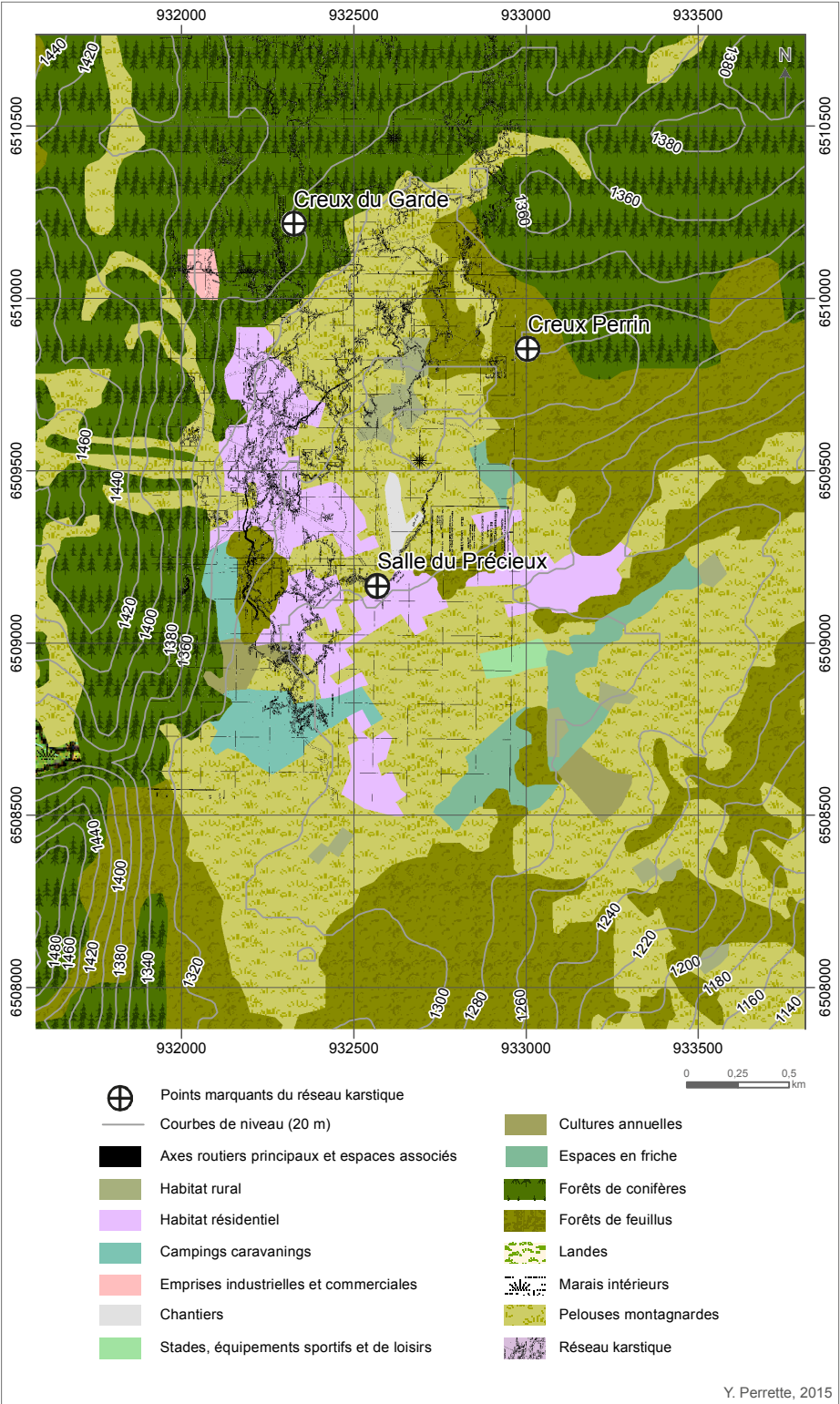


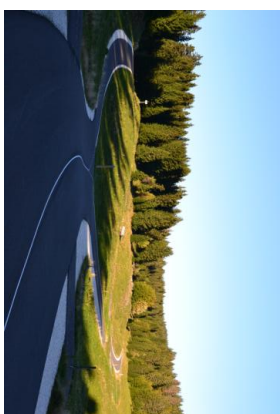
Figure 2.6 – Carte topographique présentant l'occupation des sols sur le plateau de la Féclaz en surface du réseau spéléologique de Garde-Cavale (réalisée par Yves Perrette).



Grumes



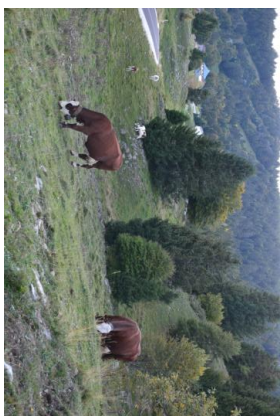
Pâturage sur les pistes de ski de fond



Pistes de ski-roue



Zone de coupe rase



Pâturage en terrain karstique



Infrastructures touristiques



Épicéas scolytés



Station de pompage du captage de Lacha

Figure 2.7 – Photographies illustrant l'impact anthropique actuel sur l'environnement au plateau de la Féclaz. Les photos de gauche représentent l'impact lié à l'exploitation forestière, celles du centre au pastoralisme et celles de droite aux activités touristiques.

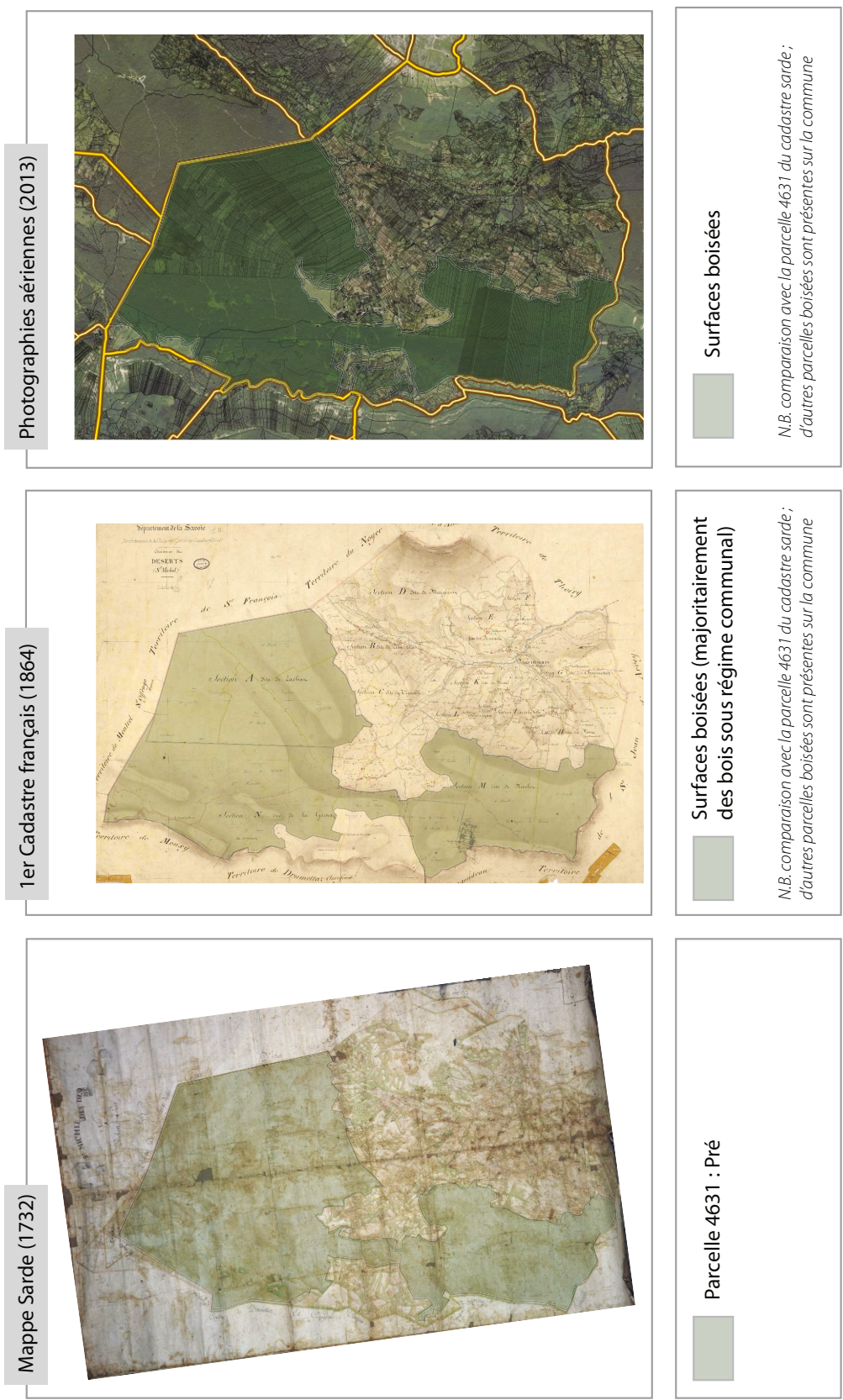


Figure 2.8 – Changement d'utilisation du plateau de la Féclaz au cours du temps à partir des cadastres historiques et des photographies aériennes (Conseil général de la Savoie, 2015). La comparaison est basée sur l'analyse de la parcelle 4631 de la mappe sarde (C2723, mappe n°283). Les limites de cette parcelle sont représentées approximativement par la zone en transparence verte. Sur le premier cadastre français (Les Déserts ; 3P 7110) et sur les photographies aériennes (d'après le site de géoportail) la zone en transparence verte correspond aux zones forestières coïncidant avec l'ancienne parcelle 4631. Les limites de ces zones ont été retracées de manière approximative à partir du cadastre pour la première, et de la carte forestière pour la seconde. Des parcelles de pré de petite surface ont pu être intégrées à la zone forestière. Les autres parcelles boisées présentes sur la commune ne sont pas représentées.

2.1.4 Système karstique et géologie

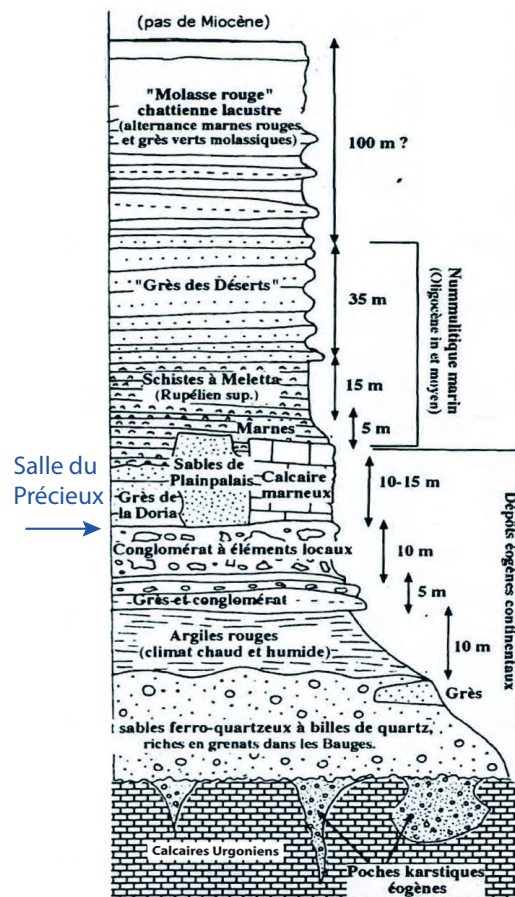


Figure 2.9 – Colonne stratigraphique des dépôts tertiaires en Bauges méridionales (Hobléa, 1999).

Le système karstique de Garde-Cavale développe plus de 45 km de galeries entre 1380 et 1055 m d'altitude. Il draine la partie centrale et sud du plateau de la Féclaz par l'intermédiaire de 5 rivières souterraines connues. Ces rivières confluent en une seule rivière qui résurge à l'exutoire de la Doria, exutoire actuel du système. Ce réseau se développe majoritairement dans les calcaires urgoniens (Barrémien et Barrémien inférieur), l'Hauterivien faisant office d'interface imperméable, et donc de niveau de base (figure 2.11). Une partie du plateau est couverte par des dépôts tertiaires contenant des sables et grès sidérolithiques, des argiles rouges, des dépôts fluvio-lacustres, des calcaires à Polypiers, la base de la série Priabonienne et une série marno-schisteuse. Ces dépôts tertiaires sont présentés dans la colonne stratigraphique de la figure 2.9. Les dépôts géologiques sont synthétisés et

décrits plus en détail dans le rapport de [Wilhelm \(2007\)](#). Ainsi, la carte du profil géologique Nord-Sud dans l'axe du réseau de Garde-Cavale (figure 2.12) montre un réseau principalement développé dans le Barrémien, suivant la structure géologique. Seule la partie sud du plateau est couverte par des dépôts tertiaires dans lesquels se développe également une partie du réseau.

C'est dans cette zone, *le secteur de la 4ème Rivière*, que se situe la Salle du Précieux (figure 2.10). Cette salle présente un plan circulaire localisé entre 20 et 30 m sous la surface selon les reports topographiques, et composé de calcaires gréseux (grès de la Doria) de la base de la série Priabonienne. À mi-hauteur de la salle, les parois bicolores des calcaires gréseux laissent place à des parois d'éboulis plus fragiles. Celles-ci correspondent aux conglomérats fluviolacustres. Le plafond de cette salle est orné de nombreuses fistuleuses organisées le long de fractures ou diaclases.



Figure 2.10 – Photographies de la Salle du Précieux (réseau de Garde-Cavale). Le plan circulaire et le toit dans les calcaires siliceux, orné de fistuleuses, sont bien visibles. Photo de gauche par Stéphane Jaillet. Photos de droite par Matthieu Thomas.

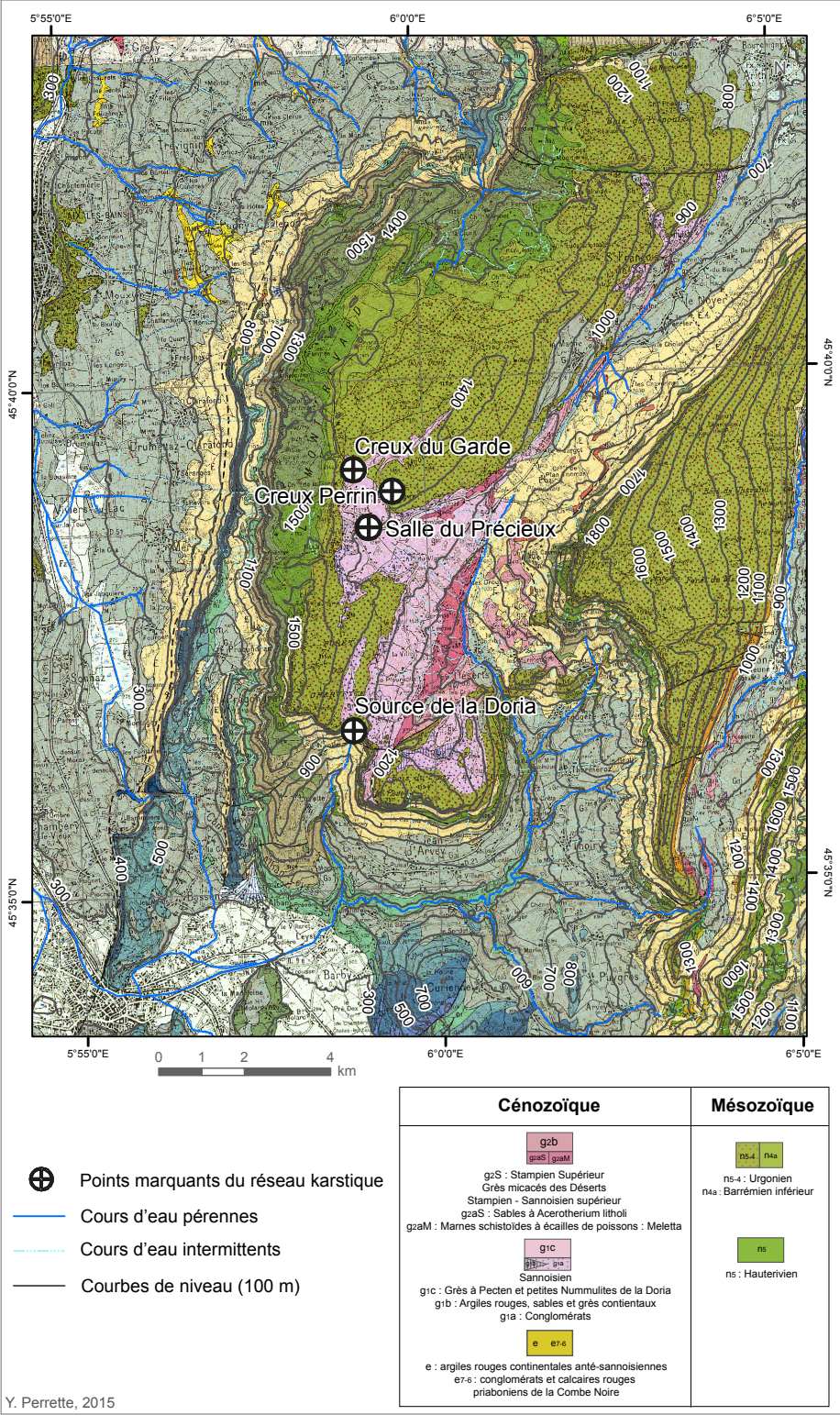


Figure 2.11 – Carte géologique du plateau de la Félaz avec la localisations des points marquants du réseau karstique de Garde-Cavale (Yves Perrette).

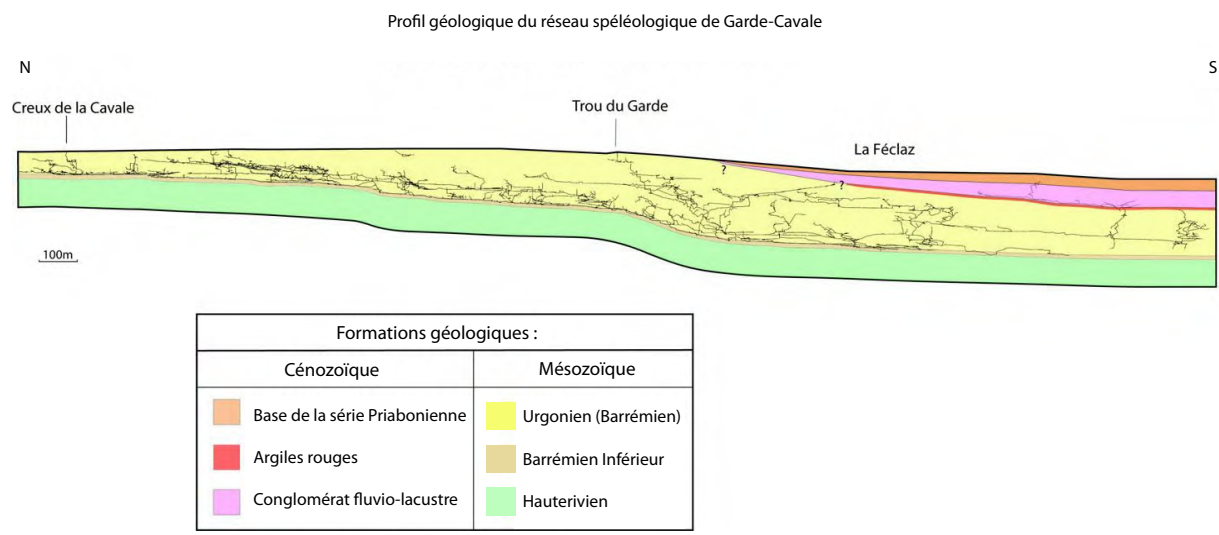


Figure 2.12 – Profil géologique Nord-Sud et développement du réseau spéléologique de Garde-Cavale (Wilhelm, 2007).

2.1.5 Fonctionnement hydrologique

La résurgence de la Doria est constituée par deux galeries perchées, dont la plus basse est un exutoire pérenne. Le Trou de la Doria (exutoire supérieur) ne fonctionne actuellement qu'en trop plein, lorsque le débit est supérieur à $4\text{ m}^3.\text{s}^{-1}$. La vitesse importante du transfert de crue observée par Najib (2000) implique une très bonne transmissivité et un faible stockage des eaux dans le système. La grotte à Carret, située le long du même escarpement, est un paléoxutoire du système.

Le bassin versant a été estimé à 14 km^2 (Lemordant, 1977; Najib, 2000) dont 11 km^2 sont caractérisés par de l'infiltration directe dans l'Urgonien, $1,6\text{ km}^2$ par de l'infiltration concentrée en bordure du Tertiaire et $1,6\text{ km}^2$ sont définis comme imperméables dans le Tertiaire (Najib, 2000). Le caractère imperméable des dépôts Tertiaires est nuancé par les études de Roig & Wilhelm (2005) et Wilhelm (2007) et des observations spéléologiques récentes. Des traçages mentionnés dans le rapport de Wilhelm (2007) dans le cours d'eau souterrain du Creux des Clarines, une perte s'ouvrant dans la base de la série Priabonienne ($N45^{\circ}38'41.4''$, $E5^{\circ}59'10.3''$; figure 2.14), n'ont pas permis d'établir une connexion avec le réseau de GC sous-jacent. Cet écoulement au contact conglomérat-calcaires siliceux indique qu'une partie des eaux d'infiltration ne rejoindrait pas le système et circulerait latéralement dans les couches géologiques superficielles. Le caractère hydromorphe du Cambisol présent au-dessus des grès semble conforter cette hypothèse.

La salle du Précieux est drainée par la 4ème Rivière. Les spéléothèmes présents dans cette salle attestent également d'écoulements verticaux. La présence des fistuleuses a tout d'abord été associée avec un écoulement lent par percolation ; l'eau circulant dans la microporosité des calcaires gréseux (Wilhelm, 2007). Cependant, des observations plus récentes ont montré que ces fistuleuses sont organisées le long de fractures ou diaclases, indiquant une percolation concentrée vers ces dernières. L'alimentation de ces fissures reste hypothétique (figure 2.13). Celles-ci peuvent être alimentées par des écoulements verticaux depuis la surface. La présence des drains de subsurfaces mis en évidence par le traçage au Creux des Clarines permet de poser l'hypothèse d'une alimentation via ces drains, la majorité des écoulements n'étant pas transférée au système.

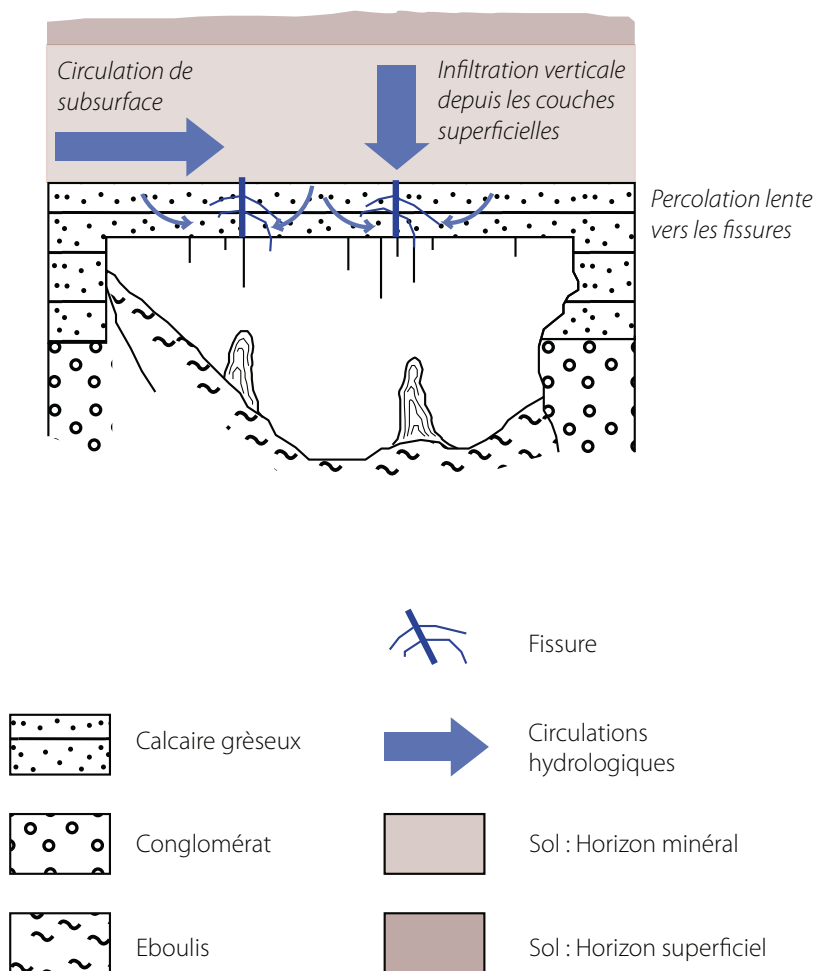


Figure 2.13 – Hypothèses de circulation des écoulements de la Salle du Précieux.

2.1.6 Contexte paléoenvironnemental

L'intérêt du site d'étude est qu'il s'inscrit dans un contexte de recherche plus général (figure 2.14). En effet, sur le plateau, plusieurs sites ont fait ou font l'objet de recherches environnementales. Un carottage a été réalisé à la tourbière des Creusates pour obtenir un enregistrement pollinique. Ce travail a été réalisé par Fernand David qui a fourni les données de végétations présentées dans le chapitre 5.

Le Creux des Elaphes, une galerie karstique située au Revard a fait l'objet de plusieurs travaux, entre autres sur le transfert de matière organique indifférenciée ou spécifique (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, HAP) depuis les sols ([Perrette et al. , 2013](#)).

Le site de Creux Perrin, une portion du réseau de GC à proximité de la Salle du Précieux, est actuellement étudié dans le cadre du transfert de HAP par le laboratoire LCME en partenariat avec le laboratoire EDYTEM. Ce suivi comprend l'étude des eaux d'écoulement mais également du transfert de ces contaminants dans les compartiments sols et végétation.

Enfin, très récemment, le site du captage de Lacha dans le réseau de GC, et la source de la Doria ont été instrumentés afin de suivre le transfert de matière organique depuis la surface vers les eaux souterraines et notamment l'impact de la coupe sanitaire actuellement en cours sur le plateau de la Féclaz suite à une attaque de scolytes sur les épicéas.

Plusieurs enregistrements sédimentaires sont également disponibles à l'échelle locale puisque les lacs du Bourget et de la Thuile ont été étudiés d'un point de vue environnemental. Ainsi, l'histoire des sols dans le bassin versant du lac de la Thuile et dans le bassin versant du Lac du Bourget ont été respectivement étudiées dans les travaux de [Bajard et al. \(2015\)](#) et [Arnaud et al. \(2012\)](#), pour les publications les plus récentes. Il est intéressant de noter que d'autres travaux sur l'histoire des sols à partir d'archives sédimentaires lacustres existent également à l'échelle régionale ([Noël et al. , 2001](#); [Mourier et al. , 2010](#); [Giguët-Covex et al. , 2011](#); [Brisset et al. , 2013](#); [Simonneau et al. , 2013](#); [Giguët-Covex et al. , 2014](#); [Simonneau et al. , 2014](#)).

Le nombre important d'études paléoenvironnementales réalisées dans les Alpes françaises nord-occidentales et notamment dans les Bauges à l'échelle locale permettent donc de donner un cadre chronologique à l'histoire environnementale du site étudié.

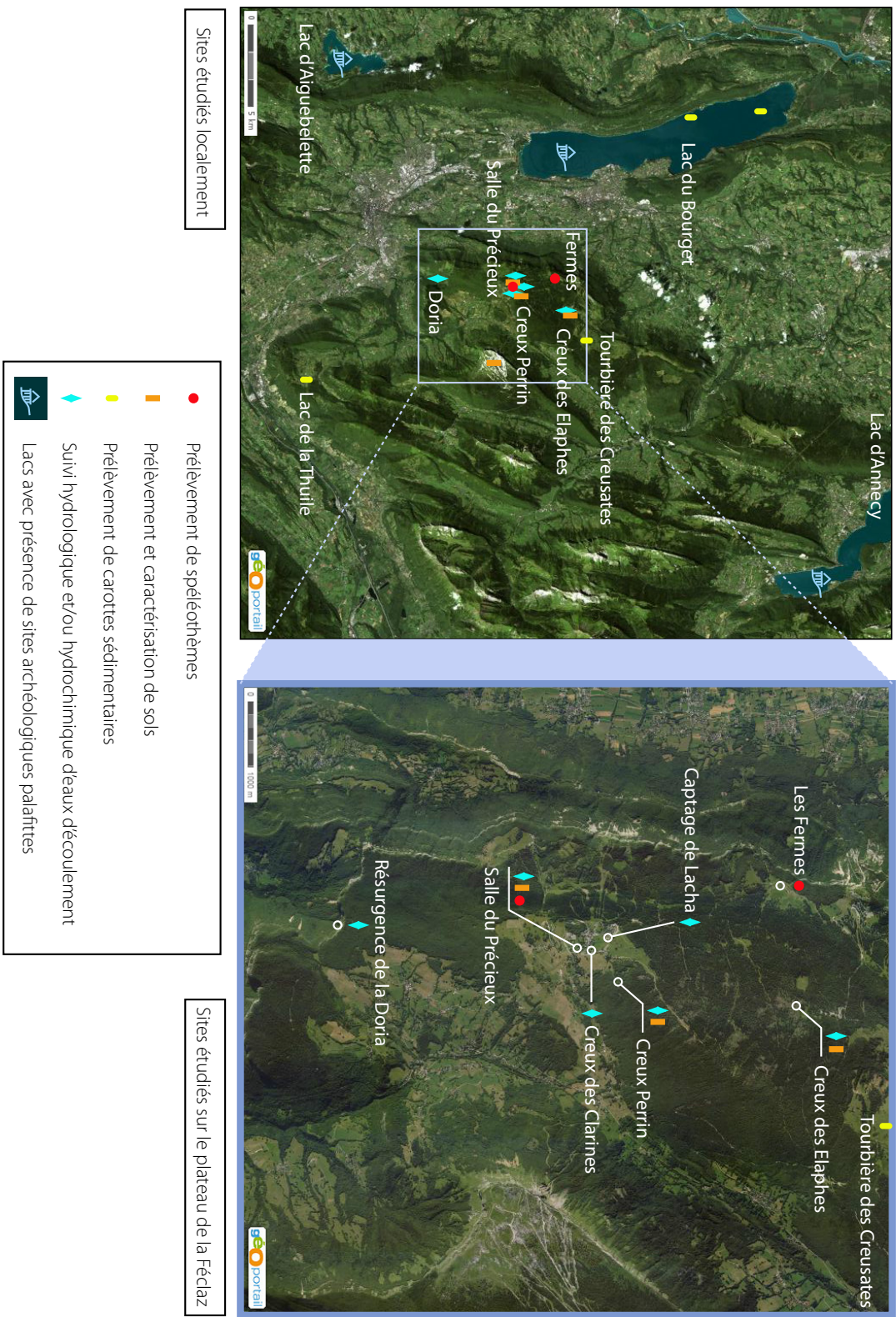


Figure 2.14 — Carte de localisation des différentes archives naturelles et anthropiques ainsi que des sites suivis à l'échelle locale. Un zoom a été réalisé sur le plateau de la Féclaz (carte de droite).

2.2 Les spéléothèmes de Garde-Cavale

Entre 2009 et 2013, deux campagnes de prélèvement ont permis d'obtenir 4 spéléothèmes provenant de la Salle du Précieux (figure 2.15). Les deux premières stalagmites prélevées en 2009 (**GC-09A** et **GC-09B**) couvrent la quasi totalité de la période Holocène (de plus de -12 000 à -790 ans). Les deux autres stalagmites (**GC-13A** et **GC-13B**) ont été prélevées en 2013 dans le but de couvrir la partie récente de l'Holocène manquant à la séquence. **GC-09A** et **GC-09B** ont été prélevées en rive gauche de la rivière alors que **GC-13A** et **GC-13B** ont été prélevées en rive droite.

Pour des raisons analytiques, seuls trois de ces spéléothèmes (**GC-09B**, **GC-13A** et **GC-13B**) seront utilisés dans cette étude, recouvrant ainsi les derniers 6000 ans. Ainsi, la stalagmite **GC-09A** ne sera pas décrite dans cette section.

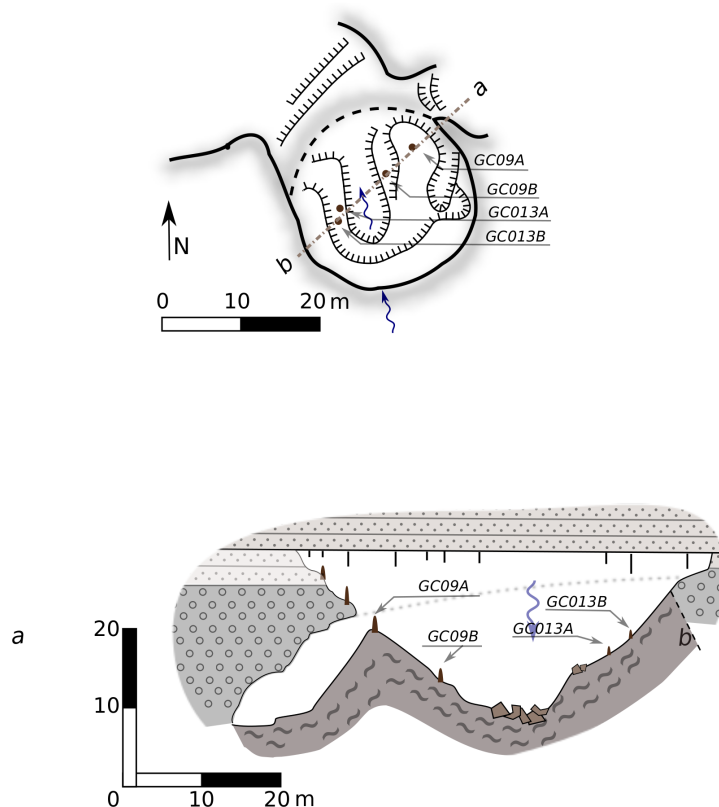


Figure 2.15 – Topographie spéléologique (en haut) et coupe transversale (en bas) selon le transect *a-b* de la Salle du Précieux avec la localisation des différents spéléothèmes prélevés (réalisé par Yves Perrette).

2.2.1 Modèles d'âge

Chacune de ces stalagmites a fait l'objet de datations U/Th afin d'établir un modèle d'âge. Des prélèvements de 40 à 100 mg de calcite ont été réalisés par Isabelle Couchoud (et Yves Perrette et Marine Quiers) afin d'obtenir environ 30 ng d'uranium. Ces échantillons ont été prélevés sous forme de blocs de calcite pour les datations exploratoires puis sous forme de poudre pour les datations suivantes, afin d'améliorer leur précision. Les analyses ont été réalisées en MC-ICPMS par John Hellstrom à School of Earth Sciences de l'Université de Melbourne, selon la méthode décrite dans [Hellstrom \(2003\)](#). Les modèles d'âge (b, figures 2.16, 2.17 et 2.18 selon les spéléothèmes) ont également été réalisés par John Hellstrom. Ainsi, les stalagmites **GC-09B**, **GC-13A** et **GC-13B** présentent des dates respectivement entre -790 et -5784 ans, -236 et -5546 ans et de -72 à -2193 ans. L'établissement des modèles d'âge a montré que ces trois échantillons présentent un taux de croissance quasi linéaire, entre 30 et 68 $\mu\text{m}/\text{an}$ en moyenne selon les échantillons.

Les échantillons **GC-09B** et **GC-13A** présentent des hyatus bien visibles mais seul le modèle d'âge de l'échantillon **GC-13A** semble affecté. En effet, la période entre -784 et -2846 ans présente un taux de croissance bien plus lent puisque divisé par 2 par rapport au taux de croissance moyen (12,5 $\mu\text{m}/\text{an}$). Cependant, le prélèvement effectué en dessous du hyatus n'a pu être daté pour cause de problème analytique. Ainsi le taux de croissance durant cette période est soumis à d'importantes incertitudes, notamment sur la durée de la période d'arrêt de croissance.

L'échantillon **GC-13B** présente également un modèle quasi linéaire mais les dates récentes (après -500 ans) ont une incertitude associée très importante. Le modèle d'âge n'est par conséquent pas précis sur la période récente. Par ailleurs, il est supposé que la stalagmite était active lors du prélèvement mais une datation supplémentaire permettrait de vérifier cette hypothèse.

Excepté la période précédemment décrite pour l'échantillon **GC-13A**, les spéléothèmes présentent un taux de croissance quasi linéaire permettant de retracer les derniers 6000 ans.

Tableau 2.1 – Résultats des datations U-Th pour chaque prélèvement des trois spéléothèmes de Garde-Cavale. Les chiffres entre parenthèses représentent les incertitudes avec un intervalle de confiance à 95%. U correspond à la quantité d'uranium dans l'échantillon (ng/g). n.r. = non renseigné. La méthode de détermination des rapports d'activité est décrite dans [Hellstrom & McCulloch \(2000\)](#). L'âge présenté dans ce tableau correspond à l'âge corrigé, calculé selon les équations de [Hellstrom \(2003\)](#) en utilisant les demi-vies spécifiées dans ([Hellstrom & McCulloch, 2000](#)) et en supposant $[^{230}\text{Th}/^{232}\text{Th}]$ initial = $1,5 \pm 1,5$. $[^{234}\text{U}/^{238}\text{U}]$ correspond au rapport $[^{234}\text{U}/^{238}\text{U}]$ reconstruit au moment de la formation de l'échantillon, d'après son âge calculé. * = échantillons présentant un problème analytique.

Echantillon	U (ng/g)	Prof. (mm)	$[^{230}\text{Th}/^{238}\text{U}]$	$[^{234}\text{U}/^{238}\text{U}]$	$[^{232}\text{Th}/^{238}\text{U}]$	$[^{230}\text{Th}/^{232}\text{Th}]$	Age (ka)	$[^{234}\text{U}/^{238}\text{U}]$
GC09B								
D369b	368 (28)	1,5 (0,50)	0,0096 (0,0003)	1,1669 (0,0023)	0,001247 (0,000023)	7,7	0,790 (0,062)	1,1673 (0,0023)
3	732 (55)	33,5 (1,00)	0,0143 (0,0002)	1,1740 (0,0023)	0,000125 (0,000001)	114,9	1,325 (0,020)	1,1747 (0,0023)
D296	587 (44)	77,5 (0,50)	0,5000 (0,0003)	1,1666 (0,0038)	0,000316 (0,000008)	66,9	60,066* (0,281)	1,1974 (0,0044)
2	465 (35)	134 (1,50)	0,0303 (0,0003)	1,1627 (0,0025)	0,000241 (0,000002)	125,4	2,857 (0,032)	1,1640 (0,0025)
D205	379 (28)	168,5 (0,50)	0,0371 (0,0004)	1,1810 (0,0017)	0,000141 (0,000002)	262,3	3,465 (0,039)	1,1828 (0,0017)
D152	509 (38)	221,5 (0,50)	0,0429 (0,0005)	1,1729 (0,0015)	0,000091 (0,000001)	473,6	4,052 (0,049)	1,1749 (0,0015)
D109	714 (54)	264,5 (0,50)	0,0501 (0,0004)	1,1549 (0,0042)	0,000137 (0,000002)	365,0	4,819 (0,044)	1,1570 (0,0042)
D68	500 (38)	306 (0,50)	0,0595 (0,0008)	1,1688 (0,0017)	0,000286 (0,000003)	207,7	5,666* (0,081)	1,1715 (0,0017)
1b	470 (35)	319 (0,50)	0,0581 (0,0004)	1,1618 (0,0020)	0,000717 (0,000006)	81,0	5,524 (0,052)	1,1643 (0,0020)
1	773 (58)	321 (1,00)	0,0564 (0,0004)	1,1478 (0,0037)	0,000092 (0,000019)	612,2	5,481 (0,044)	1,1501 (0,0038)
D35	519 (39)	338,5 (0,50)	0,0605 (0,0008)	1,1632 (0,0013)	0,000382 (0,000006)	158,3	5,784 (0,082)	1,1659 (0,0013)
D6	697 (52)	367,5 (0,50)	0,0643 (0,0004)	1,1679 (0,0034)	0,000312 (0,000006)	205,8	6,140 (0,046)	1,1708 (0,0034)
GC13A								
1	554 (42)	4,75 (0,75)	0,0028 (0,0003)	1,1671 (0,0020)	0,000295 (0,000002)	9,6	0,236 (0,031)	1,1672 (0,0020)
2	424 (32)	23,75 (0,75)	0,0083 (0,0002)	1,1435 (0,0012)	0,000120 (0,000001)	69,3	0,784 (0,020)	1,1438 (0,0012)
2-2014	n.r.	51 (1,50)	0,0302 (0,0005)	1,1528 (0,0042)	0,000520 (0,000013)	58,0	2,846 (0,055)	1,1541 (0,0042)
3	327 (25)	107 (1,00)	0,0434 (0,0005)	1,1552 (0,0015)	0,000203 (0,000002)	213,6	4,154 (0,050)	1,1570 (0,0015)
3-2014	n.r.	113 (1,00)	0,0448 (0,0005)	1,1590 (0,0042)	0,001021 (0,000033)	43,8	4,204 (0,069)	1,1609 (0,0042)
4-2014	n.r.	164,5 (1,50)	0,0592 (0,0007)	1,1751 (0,0043)	0,000950 (0,000033)	62,3	5,546 (0,083)	1,1779 (0,0044)
GC13B								
1	466 (35)	2 (1,00)	0,0018 (0,0002)	1,1161 (0,0012)	0,001111 (0,000003)	1,6	0,072 (0,055)	1,1161 (0,0012)
1-2014	n.r.	6,5 (1,50)	0,0051 (0,0002)	1,1154 (0,0040)	0,003091 (0,000109)	1,6	0,212 (0,146)	1,1155 (0,0040)
2-2014	n.r.	11 (1,00)	0,0088 (0,0004)	1,1207 (0,0039)	0,008031 (0,000183)	1,1	0,118 (0,379)	1,1208 (0,0039)
2	532 (40)	33,5 (0,50)	0,0097 (0,0002)	1,1189 (0,0017)	0,000743 (0,000007)	13,0	0,880 (0,040)	1,1192 (0,0017)
3-2014	n.r.	47 (1,50)	0,0138 (0,0003)	1,1155 (0,0039)	0,000850 (0,000019)	16,2	1,278 (0,050)	1,1159 (0,0039)
3	404 (30)	81 (1,00)	0,0242 (0,0004)	1,1145 (0,0016)	0,002142 (0,000013)	11,3	2,193 (0,108)	1,1152 (0,0016)

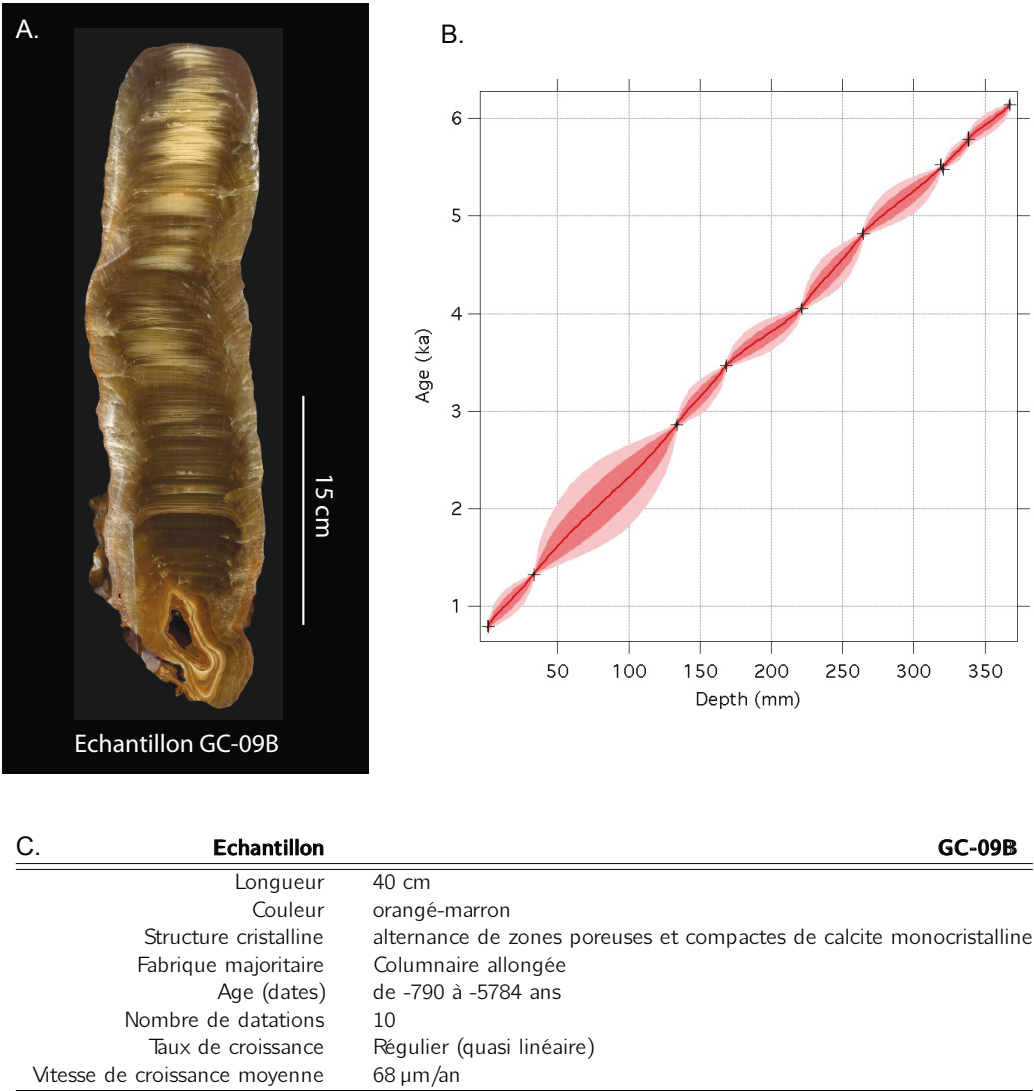


Figure 2.16 – a) Photographie de l'échantillon **GC-09B** en coupe longitudinale. b) Modèle d'âge pour l'échantillon **GC-09B** réalisé par J. Hellstrom (Université de Melbourne). La figure présente la profondeur (mm) en fonction de l'âge (kans) selon les datations obtenues et l'incertitude associée (croix noires). En rouge est représentée l'incertitude associée au modèle d'âge. c) Caractéristiques générales de l'échantillon **GC-09B**.

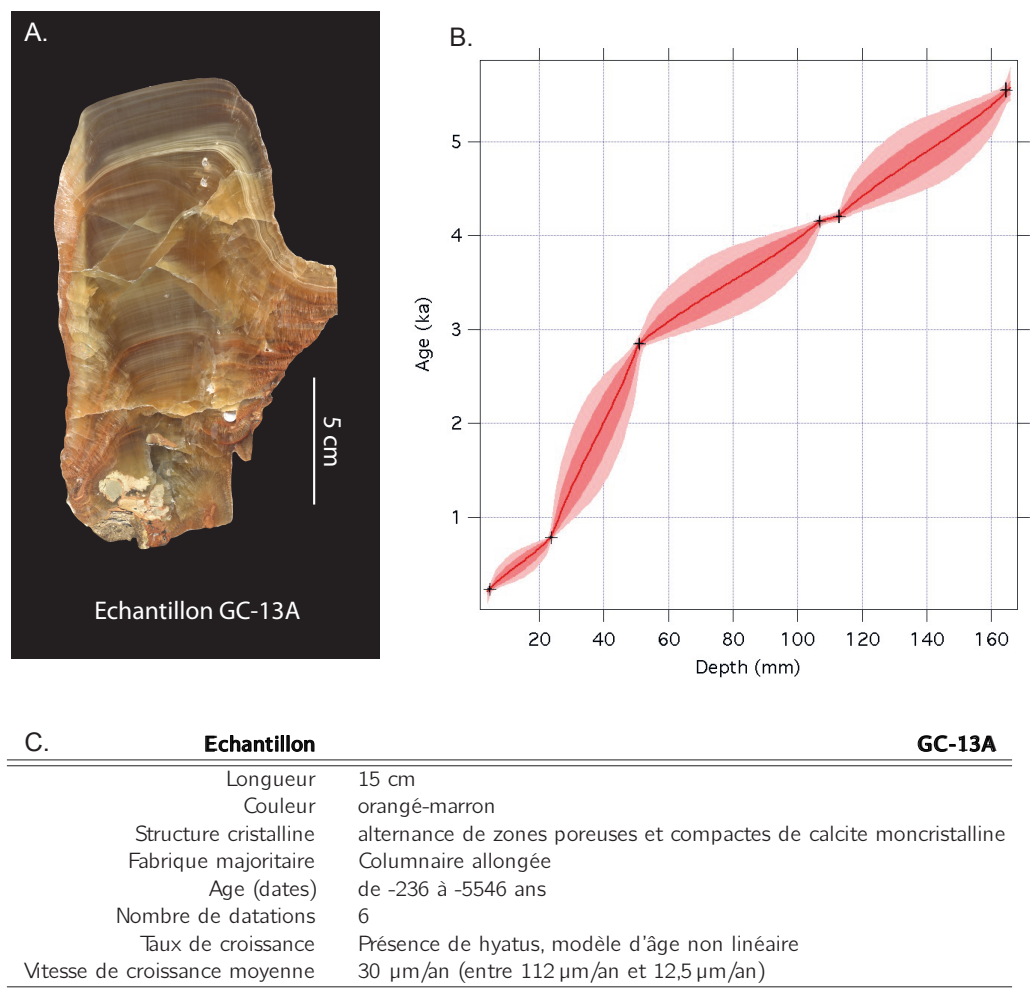


Figure 2.17 – a) Photographie de l'échantillon **GC-13A** en coupe longitudinale. b) Modèle d'âge pour l'échantillon **GC-13A** réalisé par J. Hellstrom (Université de Melbourne). La figure présente la profondeur (mm) en fonction de l'âge (kans) selon les datations obtenues et l'incertitude associée (croix noires). En rouge est représentée l'incertitude associée au modèle d'âge. c) Caractéristiques générales de l'échantillon **GC-13A**.

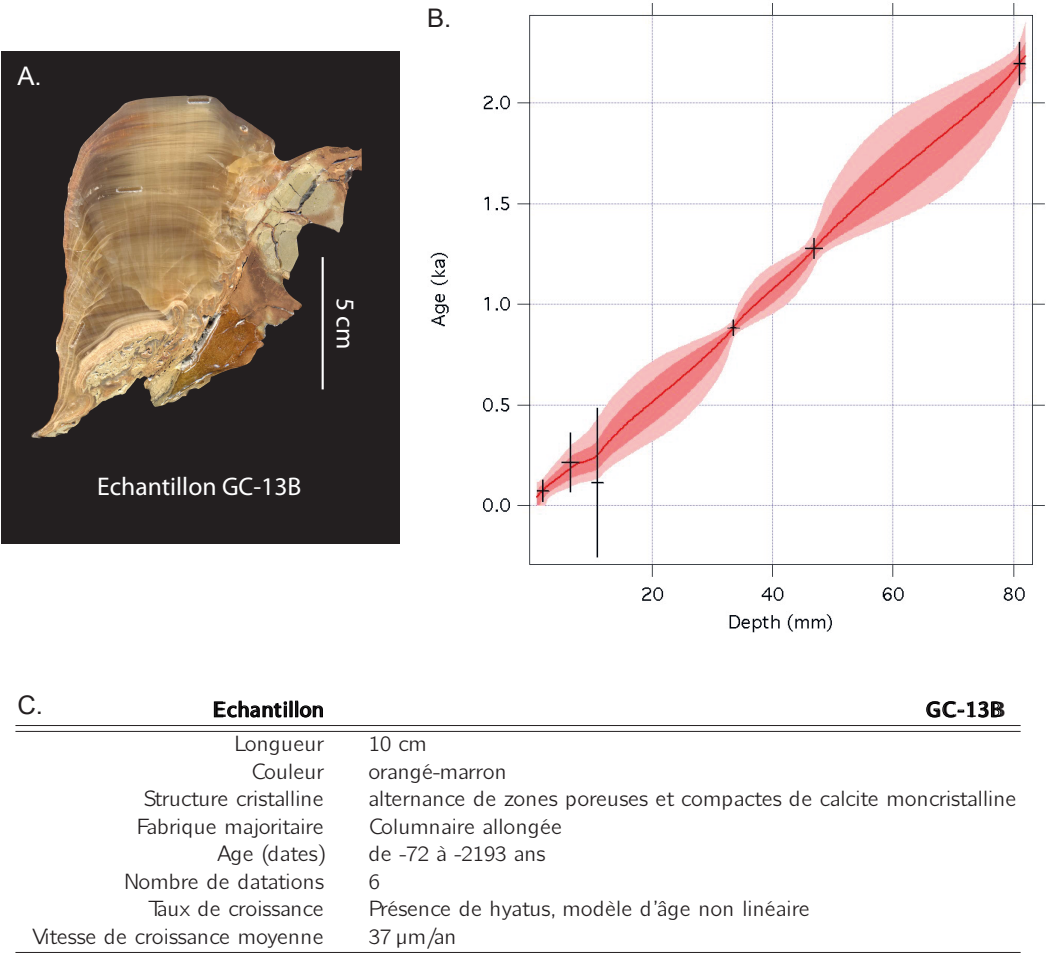


Figure 2.18 – a) Photographie de l'échantillon **GC-13B** en coupe longitudinale. b) Modèle d'âge pour l'échantillon **GC-13B** réalisé par J. Hellstrom (Université de Melbourne). La figure présente la profondeur (mm) en fonction de l'âge (kans) selon les datations obtenues et l'incertitude associée (croix noires). En rouge est représentée l'incertitude associée au modèle d'âge. c) Caractéristiques générales de l'échantillon **GC-13B**.

2.2.2 Description des échantillons

Les trois stalagmites étudiées sont d'aspect très similaire (a, figures 2.16, 2.17 et 2.18 selon les spéléothèmes). Ces échantillons orangés-marrons présentent une cristallographie très homogène et une fabrique colonnaire allongée associée à un débit constant et un degré de sursaturation assez faible et constant (Couchoud, 2006, 2008b). Cette calcite monocristalline présente des alternances de zones compactes et de zones plus poreuses impliquant certainement des changements de cinétique de précipitation et/ou de saturation de la solution. Les principales caractéristiques de chacun de ces échantillons sont résumées dans les tableaux des figures 2.16, 2.17 et 2.18 selon les spéléothèmes.

Plusieurs prélèvements ont été réalisés en plus des datations sur chacun de ces spéléothèmes. Ces derniers sont tous synthétisés dans les cartes de prélèvements figures 2.19, 2.20, 2.21. Les méthodes et résultats des proxies organiques seront décrits dans les deux chapitres suivants (chapitres 3 et 4). Étant donné la quantité de calcite nécessaire pour l'analyse des lipides et du $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique (jusqu'à 20 g), ces prélèvements ont été réalisés sur la deuxième face de l'échantillon **GC-09B** afin de préserver la première pour les analyses haute-résolution. Pour comparer les résultats, la localisation de ces échantillons a été reportée sur la première face (figure 2.19).

Des prélèvements isotopiques ont été réalisés par Isabelle Couchoud préalablement à ceux des proxies organiques. Les axes de prélèvements correspondent à l'axe de croissance des stalagmites et la résolution est de 1mm. Les analyses ont été réalisées par Russell Drysdale sur des poudres de calcite d'environ 1 mg en utilisant un spectromètre de masse de rapport isotopique à flux continu à l'Université de Melbourne (School of Geography). Les échantillons sont préalablement dissous dans de l'acide phosphorique 105% à 70°C. Les résultats ont été normalisés sur l'échelle Vienna Pee Dee Belemnite en se basant sur différents standards internes et internationaux (NBS18 et NBS19). La précision analytique moyenne est supérieure à 0,1‰. Une réplication des mesures a été réalisée dans tous les cas où les résultats pour des échantillons adjacents diffèrent de 0,4‰ ou plus.

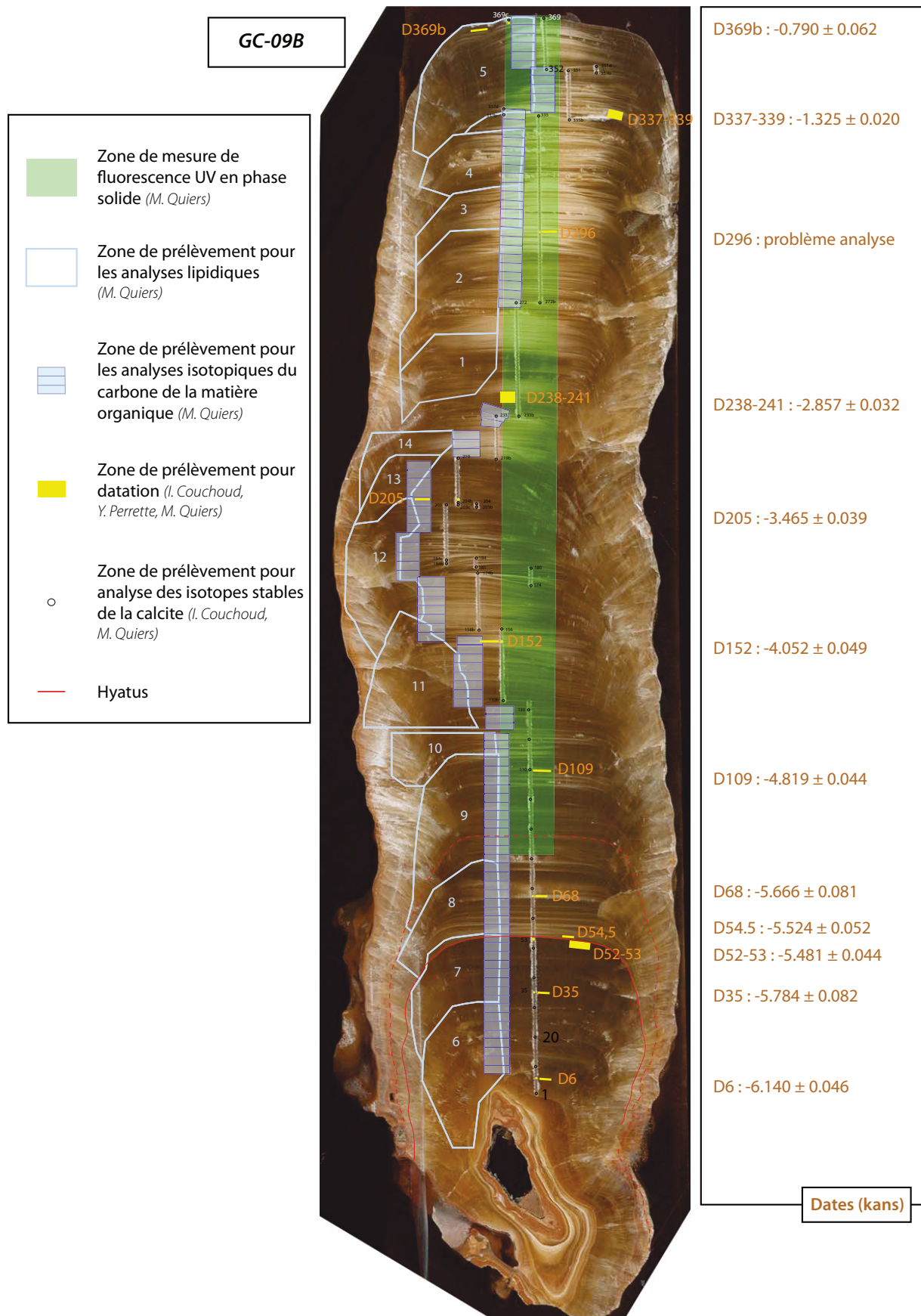


Figure 2.19 – Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon GC-09B.

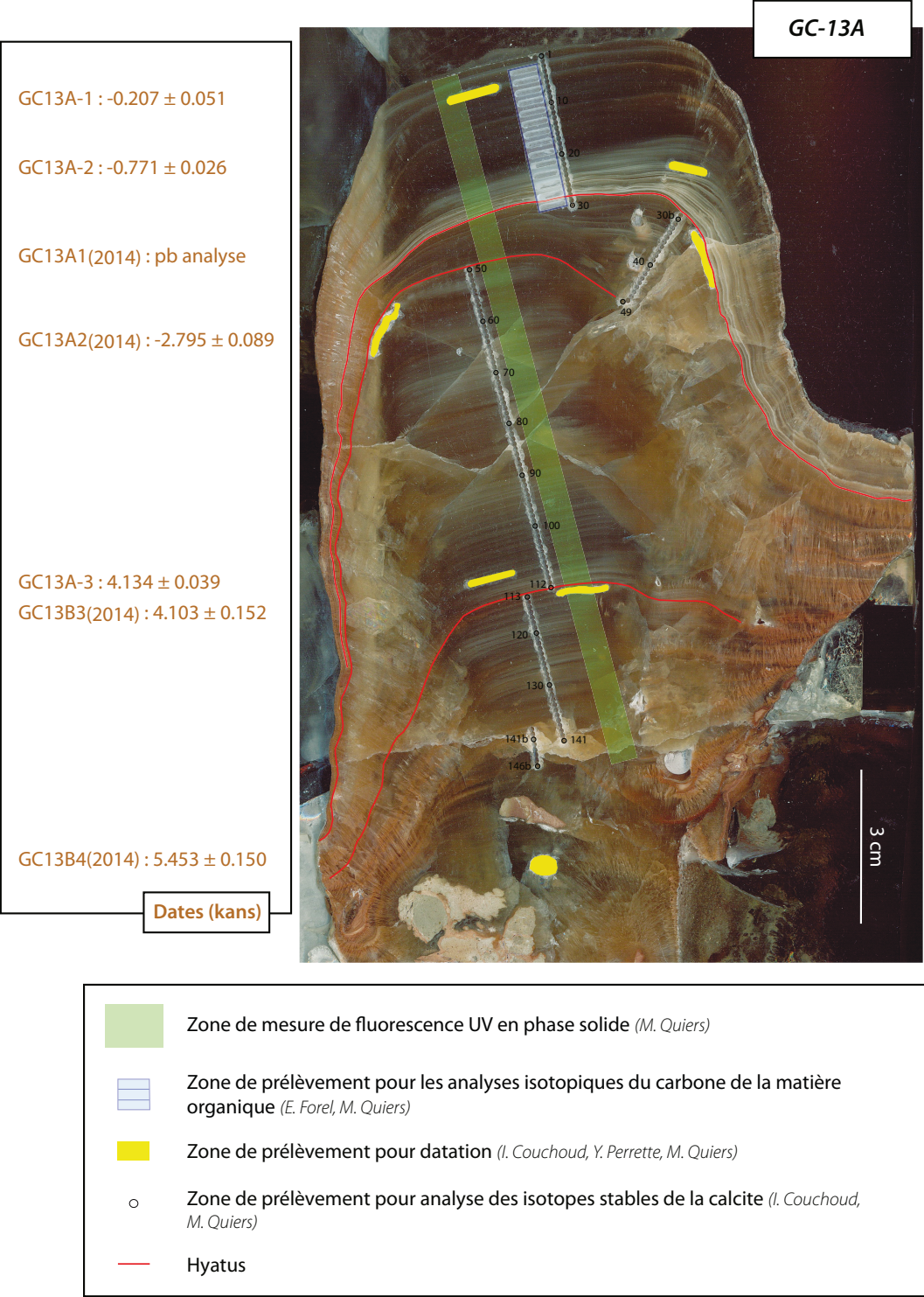


Figure 2.20 – Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon **GC-13A**.

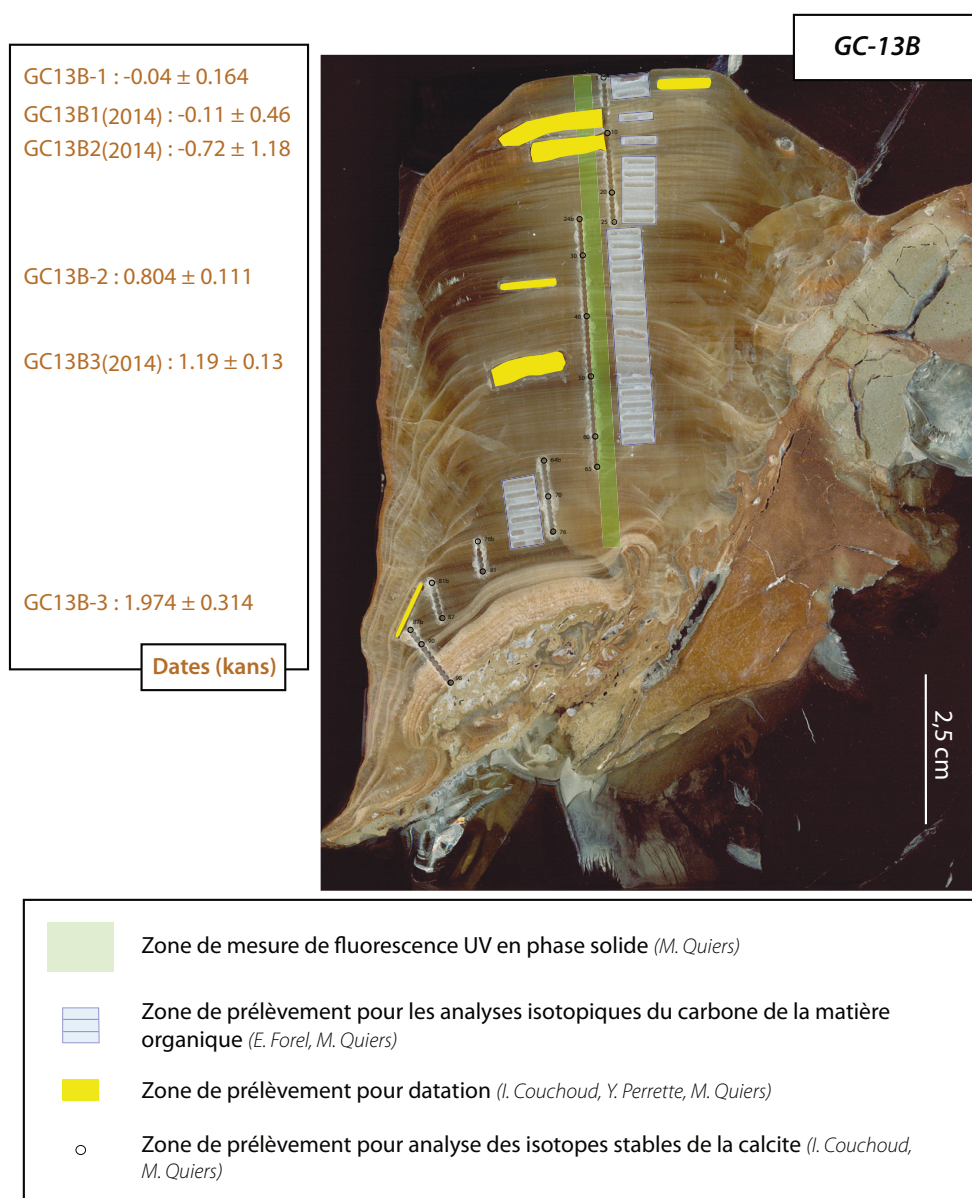


Figure 2.21 – Carte des prélèvements réalisés sur l'échantillon **GC-13B**.

Les spéléothèmes de la Salle du Précieux ont été choisis pour plusieurs raisons :

- ces spéléothèmes sont proches de la surface. Le projet de recherche portait initialement sur la reconstruction d'une chronique de pollution atmosphérique en analysant les HAP. La proximité de la surface était donc une caractéristique importante pour favoriser la probabilité de piégeage de ces composés.
- la totalité de la période Holocène est couverte par ces spéléothèmes et certaines périodes se recouvrent, permettant de répliquer le signal.
- il existe peu de chroniques de spéléothèmes dans la région (gain d'information).

Ce site est caractérisé par une bonne connaissance de l'environnement actuel en surface (sols, végétation, activités anthropiques), essentielle à la compréhension des environnements passés, mais le fonctionnement hydrologique de la Salle du Précieux reste encore peu connu. Par ailleurs, plusieurs archives naturelles ont été étudiées localement et permettent de replacer les spéléothèmes du réseau de Garde-Cave dans un contexte local, voir régional.

CHAPITRE 3

Les proxies organiques émergents

Objectifs du chapitre :

- État des connaissances des proxies organiques
- Extraction et analyse de différents proxies organiques
- Développement méthodologique visant à améliorer la résolution temporelle des analyses
- Couplage des différents proxies pour évaluer leur robustesse afin d'obtenir une information paléoenvironnementale convergente

L'utilisation des proxies organiques des spéléothèmes dans les reconstructions paléoenvironnementales et climatiques connaît un important développement depuis une dizaine d'années. En effet, le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite ($\delta^{13}\text{C}_{\text{CA}}$) a longtemps été le principal proxy de l'environnement et de nombreuses études l'ont utilisé pour reconstruire les changements de végétation et du climat (Denniston *et al.*, 2001; Genty *et al.*, 2006; Cosford *et al.*, 2009). Cependant, comme nous l'avons vu en introduction (chapitre 1), de nombreux paramètres peuvent influencer le $\delta^{13}\text{C}$ dans le sol, puis pendant le transfert jusqu'aux spéléothèmes (McDermott, 2004; Fairchild *et al.*, 2006; Couchoud, 2008a; Dreybrodt & Scholz, 2011; Tremaine *et al.*, 2011; Riechelmann *et al.*, 2013), rendant ainsi complexe l'interprétation environnementale de cet indicateur.

L'avancée des techniques analytiques en géochimie organique a permis de développer plusieurs traceurs organiques, extraits d'un second pool de carbone correspondant à la matière organique piégée entre ou dans les cristaux de calcite (Ramseyer *et al.*, 1997). L'intérêt de ce développement est d'obtenir des indicateurs ayant un degré d'information plus élevé que celui obtenu avec le rapport isotopique du carbone de la calcite. Ces indicateurs correspondent à la matière organique totale (Blyth *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014; Perrette *et al.*, 2015; Quiers *et al.*, 2015) ou à des composés organiques spécifiques (ex. Blyth *et al.*, 2011; Rushdi *et al.*, 2011; Perrette *et al.*, 2013; Blyth *et al.*, 2014; Bosle *et al.*, 2014); les traceurs moléculaires ayant un plus haut degré d'information. Les ré-

sultats obtenus semblent prometteurs mais ces proxies restent encore à développer du fait du faible nombre d'études réalisées et de la méconnaissance des mécanismes de transfert vers les spéléothèmes. Par ailleurs, les techniques analytiques utilisées présentent plusieurs désavantages. Elles sont très consommatrices de matériel et leur limite de quantification est élevée. L'information environnementale obtenue est donc à prendre avec précaution et surtout, elle est dégradée temporellement.

Cette étude se propose donc de coupler des proxies bien résolus avec d'autres proxies moins bien résolus mais plus informatifs. Ce couplage a pour but de définir des proxies organiques robustes permettant de faire converger l'interprétation paléoenvironnementale afin d'obtenir un enregistrement haute-résolution des environnements passés. Une attention particulière a été portée à l'amélioration de la résolution temporelle des résultats, notamment en adaptant la méthodologie d'extraction.

Pour atteindre cet objectif, plusieurs proxies organiques ont donc été privilégiés :

- le rapport isotopique du carbone de la matière organique ($\delta^{13}C_{MO}$) ;
- les lipides (plus particulièrement les n-alcanes) ;
- les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

Les HAP (section 3.3) et les lipides (section 3.4) sont des traceurs moléculaires permettant d'obtenir une information très spécifique. Les premiers sont des résidus de combustion, naturelle ou anthropique, dont les cycles de dépôt (depuis l'air)/volatilisation (depuis les sols) sont liés aux conditions climatiques. Les seconds représentent la contribution des compartiments sol et végétation et/ou le type de végétation, et sont influencés également par les conditions climatiques. Le $\delta^{13}C_{MO}$ (section 3.1) est un traceur moins informatif puisqu'il trace les évolutions de la matière organique totale et non d'un seul composé. L'intérêt d'un traceur de la matière organique dans sa globalité est de s'affranchir des mécanismes de stockage ou de transport spécifiques à chaque composé moléculaire pouvant perturber la lecture de l'information paléoenvironnementale. Par ailleurs, ce proxy est supposé être influencé par des facteurs similaires au $\delta^{13}C$ de la calcite mais tout en étant moins impacté par la contribution de l'encaissant et par les processus de fractionnement au sein du système.

3.1 Matière organique et concepts moléculaires

Ce travail utilise de nombreuses connaissances relatives à la matière organique et s'appuie sur des travaux variés et plus ou moins récents. Cependant, de nouveaux concepts sur la structure moléculaire de la matière organique émergent principalement depuis les années 2000 (ex. [MacCarthy, 2001](#); [Piccolo, 2001](#); [Sutton & Sposito, 2005](#)), et modifient les théories de la dynamique de la matière organique. Ils n'ont cependant pas été repris dans toutes les études, et notamment celles de la communauté spéléothémiste. Aussi, ce travail présentera brièvement l'évolution de ces concepts afin de faire le lien entre ces travaux et la connaissance actuelle de la matière organique.

3.1.1 Le concept "polymère"

La matière organique des sols représente un mélange de composants organiques hétérogènes en fonction, en âge ou en nature, comprenant les résidus végétaux, les exsudats racinaires, la biomasse microbienne, des biomolécules et les substances humiques ([Semenov et al. , 2013](#)). Ces dernières sont parmi les substances organiques les plus abondantes à la surface de la Terre. Plus de 50 % du carbone du sol est ainsi considéré comme du matériel humique ([Chilom et al. , 2009](#)). Ces substances humiques ont longtemps été définies comme constituées de trois fractions :

- les acides fulviques ;
- les acides humiques ;
- les humines.

Cette distinction est analytique et repose sur la réponse des différentes fractions à l'extraction alcaline ([IHSS, 2015](#)). Dans leur chapitre, [Kleber & Johnson \(2010\)](#) réalisent une review dans laquelle ils expliquent que cette extraction est à la base de l'étude de la matière organique des sols et qu'elle est à l'origine d'un biais dans la compréhension de cette dernière. Plusieurs auteurs ont souligné que les substances humiques obtenues par cette méthode, ne correspondaient pas à des composés organiques existant dans le sol ([Kleber & Johnson, 2010](#)). L'un des points les plus critiqués est que les processus d'humification puissent résulter en la formation de polymères macromoléculaires, résistants à la décomposition du fait de leur complexité.

La vision traditionnelle des processus de décomposition et d'humification des résidus organiques du sol implique une perte de matériel de type carbohydrates et protéines, et l'accumulation de matériel humique contenant une proportion importante de carbone aromatique ([Haider et al. , 1975](#)). Ce point de vue est illustré par la figure 3.1. Même si l'idée que les processus d'humification concentrent des cycles aromatiques dans la matière organique des sols est encore largement acceptée, le fait que les composés aromatiques s'accumulent au cours des processus d'humification est sérieusement questionné ([Kleber & Johnson, 2010](#)).

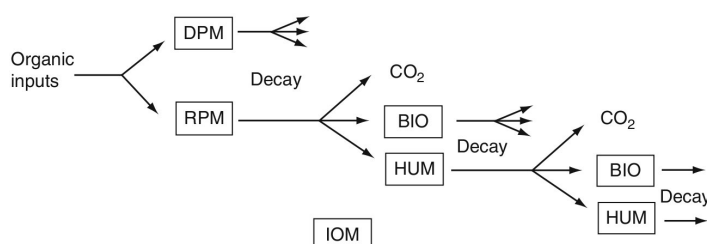


Figure 3.1 – Structure du modèle Rothamsted de turnover du carbone dans les sols. DPM = matériel végétal décomposable ; RPM = matériel végétal récalcitrant ; BIO = biomasse microbienne ; HUM = matière organique humifiée ; IOM = matière organique inerte. DPM et RPM se décomposent pour former le CO_2 , BIO et HUM. BIO et HUM se décomposent et forment plus de CO_2 , BIO et HUM. D'après [Coleman & Jenkinson \(1996\)](#) dans [Kleber & Johnson \(2010\)](#).

Le concept de polymère des substances humiques est basé sur le fait que les molécules composantes de la matière organique des sols sont produites par une synthèse secondaire à partir des produits de dégradation. Ce postulat implique que les molécules organiques créées correspondent à des polymères de grande taille liés par liaison covalente, avec une structure chimique différente de celle du matériel de départ. Ce modèle implique une résistance à la décomposition (ou récalcitrance) inhérente à la structure moléculaire. Cependant, les connaissances actuelles mettent en doute et/ou réfutent les théories basées sur l'augmentation de l'aromaticité et la résistance des molécules produites au cours des processus d'humification, tendant à montrer que ce modèle moléculaire est obsolète ([Kleber & Johnson, 2010](#)).

3.1.2 Le concept d'association supramoléculaire

L'observation de la flexibilité de taille et de conformation des substances humiques en réponse aux changements de pH et de concentration cationique, a poussé les chercheurs à proposer un modèle moléculaire dans lequel ces substances n'étaient pas une seule molécule mais un assemblage de différentes molécules ([Kleber & Johnson, 2010](#)). Les assemblages moléculaires sont décrits comme des entités complexes résultant de l'association de deux espèces chimiques ou plus, liées principalement par des liaisons non-covalentes intermoléculaires. Dans le cas de ce modèle, la matière organique des sols est composée des produits de la dégradation partielle des polymères végétaux. Ces produits sont associés en agrégats supramoléculaires par des liaisons non-covalentes ou par des interactions entropiques ([Piccolo, 2001](#); [Wershaw, 2004](#); [Sutton & Sposito, 2005](#); [Smejkalová & Piccolo, 2008](#); [Chilom et al., 2009](#); [Kleber & Johnson, 2010](#)). Ce modèle est en partie basé sur une analogie entre ces structures supramoléculaires et les membranes bactériennes. Les molécules organiques seraient ainsi constituées de fragments amphiphiles, s'assemblant à partir d'interactions faibles avec les molécules d'eau ([Piccolo, 2001](#); [Wershaw, 2004](#)). Ce modèle ne propose pas de raison structurale à la résistance à la décomposition. La stabilisation des substances

humiques dans le sol serait alors due à l'accessibilité à ces substances pour les processus biotiques notamment, et non leur récalcitrance ([Dungait et al. , 2012](#)).

Ces deux modèles conceptuels sont résumés dans les figures 3.2 et 3.3. L'évolution de ces derniers a une conséquence directe sur l'interprétation de la dynamique de la matière organique dans les sols. C'est pourquoi cette distinction a été résumée en préambule de ce chapitre. Cependant, le concept d'association supramoléculaire n'est pas pris en compte dans tous les travaux sur la matière organique, et notamment les travaux les moins récents. Pour plus de facilité, la nomenclature utilisée dans les sections suivantes sera donc celle associée aux différents travaux sur lesquels s'appuie cette thèse. Dans la mesure du possible, une attention sera portée afin de conserver un discours cohérent avec ces nouvelles approches.

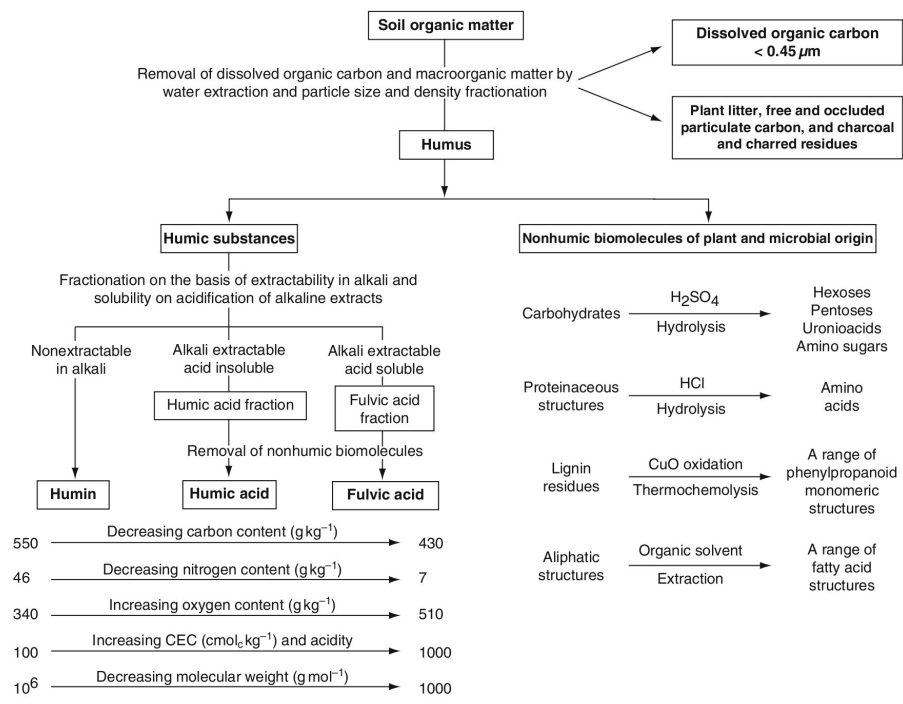


Figure 3.2 – Matière organique du sol selon le concept "Polymère", dans [Kleber & Johnson, 2010](#) (reproduit d'après [Baldock & Nelson, 2000](#); [Oades, 1989](#)).

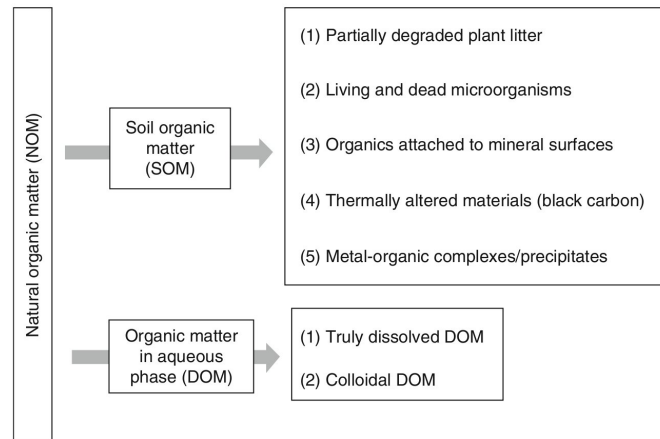


Figure 3.3 – Modèle conceptuel de la matière organique du sol basé sur le concept des agrégations moléculaires. Dans Kleber & Johnson (2010) d'après Wershaw (2004).

3.2 Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique

3.2.1 État de l'art

Le carbone de la calcite et de la matière organique provient majoritairement du sol. Les fractionnements pouvant se produire dans le système karstique lors du transport du pool organique sont négligeables (Li *et al.*, 2014), et le signal de carbone organique est donc très similaire à celui des sols. Le rapport isotopique du carbone organique ($\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$) a été utilisé comme proxy du paléoclimat et du paléoenvironnement, notamment des paléoprécipitations et des changements de végétations C3/C4, dans les sédiments de lacs, de tourbières et les paléosols (ex. Schwartz *et al.*, 1986; Talbot & Johannessen, 1992; Ménot & Burns, 2001; Freire & Monteiro, 2013; Zhu *et al.*, 2013). Cependant, en système karstique seulement quelques études ont été réalisées sur des sédiments, et seuls trois articles traitent du signal du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ dans les spéléothèmes (Blyth *et al.*, 2013a,?; Li *et al.*, 2014). Les résultats obtenus montrent un potentiel intéressant en terme de traçage de l'activité végétale et pédologique, influencées par les variations climatiques (Blyth *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014). L'utilisation de ce proxy pourrait donc permettre :

- d'enregistrer les réponses de l'environnement aux variations climatiques ;
- d'aider à l'interprétation du signal du $\delta^{13}\text{C}$ des carbonates.

Pour comprendre ce signal, une synthèse des facteurs d'influence de ce dernier est présentée par la suite.

3.2.1.1 Signature végétale

La valeur de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des sols reflète généralement le signal isotopique de la végétation. Le premier facteur de variation du $\delta^{13}\text{C}$ de la végétation est le type de photosynthèse. En effet, les processus photosynthétiques en C3, C4 ou CAM des plantes entraînent un fractionnement différent du carbone. Le $\delta^{13}\text{C}$ présente ainsi une différence moyenne de 12 à 14 ‰ entre les plantes en C3 et C4 (Deines, 1980; Mariotti, 1991). Dans les régions tempérées et froides, la grande majorité des plantes présente un chemin photosynthétique en C3, exceptées quelques herbacées et céréales. Ces plantes sont caractérisées par un $\delta^{13}\text{C}$ faible, entre -22 et -30‰ (Balesdent *et al.*, 1987; Mariotti, 1991).

D'autres facteurs peuvent également influencer le signal de $\delta^{13}\text{C}$ mais les amplitudes de variations sont plus faibles. Ainsi, des facteurs environnementaux comme le stress hydrique, le stress osmotique, les faibles températures, une faible luminosité ou encore l'altitude peuvent affecter le fractionnement et modifier le rapport isotopique (Tieszen, 1991). Plusieurs études montrent par exemple que le $\delta^{13}\text{C}$ des feuilles des plantes en C3 est négativement corrélé avec les précipitations (Wang *et al.*, 2008; Kohn, 2010). L'effet de la température est plus complexe. Elle peut directement influencer l'activité enzymatique et ainsi affecter la capacité métabolique des plantes, modifiant ainsi le $\delta^{13}\text{C}$ (Ménot & Burns, 2001). La plupart des études montrent une corrélation positive entre le $\delta^{13}\text{C}$ et la température mais ce n'est pas toujours le cas, puisque certaines études montrent une absence de corrélation ou une corrélation négative (tableau 3.1; Wang *et al.*, 2013). Selon l'adaptation de la plante à ces paramètres climatiques, le $\delta^{13}\text{C}$ peut varier, créant ainsi des différences entre les espèces. L'amplitude des variations du signal de $\delta^{13}\text{C}$ est donc dépendante des espèces végétales (Ménot & Burns, 2001).

De plus, au sein même de la plante, le $\delta^{13}\text{C}$ des différentes parties végétatives peut varier avec le type de composés les constituant, du fait de leurs différents processus de synthèse (Mariotti, 1991). Ainsi, si certains composés comme les sucres, les celluloses et hémicelluloses présentent une valeur de $\delta^{13}\text{C}$ similaire à la valeur moyenne de la plante, d'autres composés comme la pectine et la lignine sont respectivement enrichis et appauvris en ^{13}C (Mariotti, 1991). Une étude de Amiotte-Suchet *et al.* (2007) montre que les variations entre les différentes parties de la plante peuvent être plus importantes que celles entre végétaux.

La matière organique transférée au sol varie donc selon le type de couvert végétal. Celle-ci peut être divisée en une fraction hydrophobe (FHO) et une fraction plus hydrophile (FHI). La première correspond à des composés globalement plus aromatiques, principalement dérivés de la lignine, moins labiles et présentant un $\delta^{13}\text{C}$ appauvri en ^{13}C . La seconde correspond au contraire à des composés plus labiles et moins aromatiques, contenant principalement des hydrates de carbone, dont la valeur de $\delta^{13}\text{C}$ est plus forte (Kaiser *et al.*, 2001; Kalbitz & Kaiser, 2008; Nakanishi *et al.*, 2012). Cependant, au vu des concepts moléculaires développés récemment (ex. Piccolo, 2001; Sutton & Sposito, 2005; Wershaw,

Tableau 3.1 – Sélection de coefficients de variations du $\delta^{13}\text{C}$ de plantes en C3 en fonction de la température pour différentes études (Ménot & Burns, 2001).

Plant species	$\delta\Delta^{13}\text{C}/\Delta T$ (per mil/ $^{\circ}\text{C}$)	References
<i>Field studies</i>		
Quercus	0.27–0.39	Tans and Mook, 1980
Pinus	0.18	Freyer and Belacy, 1983
Coniferae	0.32	Stuiver and Braziunas, 1987
<i>Diplotaxis erucoides</i>	0.33	Schleser et al., 1989
Coniferae	0.33	Lipp et al., 1991
<i>Pinus silvestris</i> L.	0.35	Hemmann, 1993
<i>Fagus sylvatica</i> L.	0.25	Dupouey et al., 1993
<i>Fagus sylvatica</i>	0.34–0.36	Saurer et al., 1995
<i>Quercus robur</i> L.	0.35	Robertson et al., 1997
<i>Quercus robur</i> L.	0.22	Robertson et al., 1997
<i>Juniper monosperma</i>	–0.27	Leavitt and Long, 1982
<i>Albies Alba</i>	–0.15	Edwards et al., 2000
<i>Calluna vulgaris</i>	–0.18	This study
<i>S. magellanicum</i>	–0.41	This study
<i>S. capillifolium</i>	–0.20	This study
<i>Laboratory studies</i>		
Tomatoes	–0.20	O’Leary and Treichel (in O’Leary, 1988)
<i>Nardus stricta</i> L.	–0.16	Morecroft and Woodward, 1990
<i>Vicia faba</i>	–0.26	Edwards et al., 2000
<i>Salix herbacea</i> L.	< 0	Beerling et al., 1993

2004; Dungait *et al.*, 2012; Semenov *et al.*, 2013) et présentés dans la section 3.1, il est important de noter que cette distinction correspond à une distinction analytique et que les composés organiques ne sont pas figés dans l’une ou l’autre de ces fractions. Cette distinction ayant été utilisée dans de nombreuses études sur le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$, elle sera donc également utilisée ici pour plus de commodité. La production différente des composés organiques selon les espèces végétales et les conditions climatiques entraîne une modification des composés organiques produits, et donc de la proportion de ces fractions. Ceci induit des variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$. Ainsi, Kaiser *et al.* (2001) mesurent des $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ différents selon si les échantillons sont prélevés sous une forêt de pins (*Pinus sylvestris*; FHI = –25‰ PDB et FHO = –28‰ PDB) ou sous une forêt de hêtres (*Fagus sylvatica*; FHI = –26‰ PDB et FHO = –30‰ PDB). Ce résultat est également obtenu par Amiotte-Suchet *et al.* (2007) qui expliquent la différence du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ de la matière organique dissoute (MOD) du sol par une différence dans la dynamique des processus de dégradation de la matière organique liée à la différence de végétation.

3.2.1.2 Signature pédologique

Les proportions des FHO et FHI contenues dans la MOD peuvent, en plus des variations dues à la végétation, être modifiées par des processus ayant lieu dans le sol. La matière organique subit des mécanismes de sorption/désorption, aggrégation/désaggrégation, complexation ou encore de dégradation. Ces mécanismes modifient la valeur du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD en induisant un fractionnement, en impactant sélectivement les différents types de composés organiques et en modifiant les proportions de types de composés dans la phase dissoute.

Les processus de dégradation microbienne sont un paramètre influençant fortement le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des sols. Les processus métaboliques entraînent un enrichissement en ^{13}C de la matière organique (augmentation du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$) du fait de l'utilisation préférentielle du ^{12}C par les organismes (Natlhoffer & Fry, 1988; Balesdent & Mariotti, 1996; Kaiser *et al.*, 2001). Par ailleurs, la minéralisation préférentielle des composés labiles comme la cellulose, l'hémicellulose ou les acides aminés, enrichis en ^{13}C , entraîne l'augmentation de la proportion composés appauvris en ^{13}C dans la MOD (diminution du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$) (Kaiser *et al.*, 2001). Les produits de dégradation sont généralement des composés enrichis en ^{13}C , ayant donc tendance à l'inverse, à augmenter le $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD.

Les processus abiotiques de sorption, aggrégation ou complexation influencent le $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD en stabilisant une partie des composés organiques au sein des sols et/ou en limitant leur disponibilité pour les processus biologiques. Ces processus exercent également la sélection préférentielle de certains composés organiques. Ainsi, une sorption préférentielle de la fraction hydrophobe est généralement observée (Kaiser *et al.*, 2001). La MOD présente ainsi une tendance à l'enrichissement en ^{13}C (augmentation du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$).

La dynamique de ces processus biotiques et abiotiques est sous l'influence de paramètres climatiques. En effet, les mécanismes de sorption sont influencés par exemple par le type de sol (minéraux, fraction argileuse) ou le pH (Li *et al.*, 2014). Outre le type d'écosystème, les communautés bactériennes sont sensibles au climat et particulièrement à la température et l'humidité. Ainsi, Christ & David (1996) montrent que l'humidité du sol augmente la quantité de carbone organique dissout (COD) et la proportion de la FHO dans la MOD. Ce paramètre ne semble cependant pas être un facteur de contrôle prépondérant sur notre site d'étude puisque l'humidité du sol reste importante la majeure partie de l'année. Ces mêmes auteurs observent également une augmentation totale du COD avec la température, caractérisée par une augmentation préférentielle de la FHI. Celle-ci intervient soit par transformation de la matière non dissoute en produits de dégradation hydrophiles, soit par la transformation de la FHO en FHI due à l'accélération de l'activité microbienne. L'impact de la température et de l'humidité sont modulés par le temps de résidence de la matière organique dans les sols, la production végétale, le stock de matière ou encore le type de précipitations. Li *et al.* (2014) associent par exemple un signal de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatif à des périodes plus sèches et l'expliquent par un temps de résidence plus long augmentant ainsi la possibilité de dégradation, et par une diminution du pH qui limite la quantité de

FHO adsorbée sur les particules argileuses, augmentant ainsi la proportion de FHO par rapport à la FHI. Des conditions humides sont au contraire associées à un enrichissement en ^{13}C du carbone organique. Pour d'autres auteurs, les périodes de sécheresse ralentissent l'activité bactérienne, augmentent le turnover des communautés microbiennes et modifient la structure du sol permettant l'accès à un carbone stocké précédemment (Kalbitz *et al.*, 2000) ce qui entraîne une augmentation de la proportion de la FHI. Le plus souvent, les périodes humides sont associées à un appauvrissement du $\delta^{13}\text{C}$, et inversement pour les périodes sèches. La réponse du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ aux paramètres climatiques est la résultante de l'interaction de plusieurs processus et reste difficile à appréhender. Dans le cas des sols du plateau de la Féclaz, l'humidité ne semble pas être un facteur limitant des processus pédologiques étant donné la pluviométrie importante tout au long de l'année. La température est ainsi probablement le paramètre climatique influençant majoritairement la dynamique pédologique de ces sols.

Enfin, la proportion des stocks de carbone fournissant le carbone organique à la MOD peut également influencer le $\delta^{13}\text{C}$. Nakanishi *et al.* (2014) calculent ainsi un apport en matériel enrichi en provenance de la litière représentant entre 35-52% du carbone organique extrait des sols lors de la période de fonte des neiges contre moins de 10% en été. Les variations de ces stocks peuvent modifier l'influence des paramètres climatiques sur le signal de la MOD.

Pour résumer, le signal végétal du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ est modifié par plusieurs processus biotiques et abiotiques lors de son passage dans le sol. La sélectivité et le degré d'efficacité de ces processus font varier les proportions de composés enrichis et appauvris en ^{13}C dans les eaux de percolation, et donc la valeur globale du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD. La variation de la proportion de ces composés est fonction de la dynamique du cycle de la MOD dans le sol, influencée par le climat. Cependant, il reste encore difficile d'interpréter les variations du signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ du sol de manière climatique du fait des nombreuses réponses parfois contradictoires, des différents processus pédologiques à ces facteurs de contrôle.

3.2.1.3 Variation saisonnière du signal

Toutes ces caractéristiques entraînent une saisonnalité du signal qui est observée dans les eaux du sol (Nakanishi *et al.*, 2014) et les stalagmites (Li *et al.*, 2014). La variabilité saisonnière des écosystèmes est sous l'influence d'une multiplicité de facteurs mais répond principalement à un ou plusieurs facteurs de contrôle limitants. Le climat des Préalpes est caractérisé par une forte pluviométrie (environ 1700 mm par an Najib, 2000), répartie également tout au long de l'année. L'hiver est cependant caractérisé par une couverture nivale persistant jusqu'au printemps. L'humidité des sols n'est donc pas un facteur limitant de l'activité microbienne, excepté en hiver où les sols sont saturés. L'activité bactérienne est donc principalement influencée par la température et la production végétale. Ceux-ci seront donc les facteurs principaux pris en compte dans l'hypothèse de variation du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD présentée ci-dessous (figure 3.4).

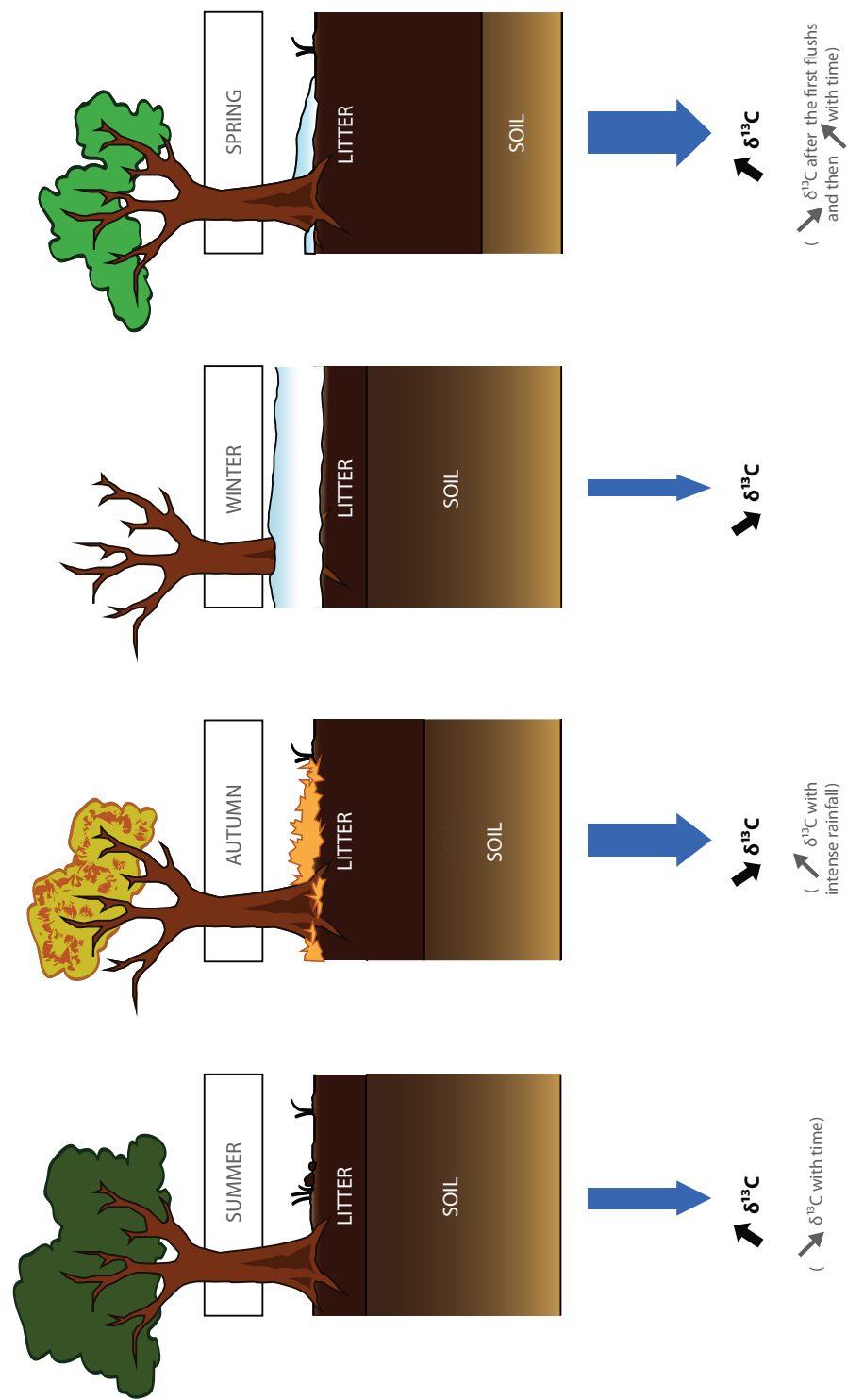


Figure 3.4 – Schéma conceptuel de la variation du signal de $\delta^{13}\text{C}_{MO}$ exportée vers le système karstique, en contexte montagnard.

En été (A, fig. 3.4), les températures sont plus élevées, et l'activité bactérienne et racinaire sont importantes. La proportion de FHI augmente donc du fait de l'importance des produits de dégradation bactérienne, de la forte production racinaire et du *turnover* plus important des communautés microbiennes. Cette augmentation a été décrite par [Christ & David \(1996\)](#) et observée par [Tissier *et al.* \(2013\)](#) dans un système karstique forestier des Préalpes, proche de la zone d'étude. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ exporté vers le spéléothème à cette période devrait donc être enrichi en ^{13}C . Cet enrichissement doit probablement décroître vers la fin de l'été avec la diminution ou du stock disponible de matière organique.

Durant la période automnale (B, fig. 3.4), un apport important de matière organique s'effectue vers le sol par la chute des feuilles pour les environnements sous couvert caducifolié. Cette saison est caractérisée par une augmentation de l'humidité et une diminution de la température. Celle-ci entraîne une réduction de l'activité bactérienne et donc de la production de composés solubles. Ceci se traduit par une diminution du $\delta^{13}\text{C}$ de la MOD. Cependant, la période automnale est également caractérisée par des épisodes de précipitation intense, lessivant une quantité importante de la matière organique fournie lors de la chute des feuilles. Bien qu'une proportion importante de la litière soit stockée dans les horizons superficiels des sols, l'intensité de ces "flushs" de matière organique peut entraîner un apport de composés labiles important au système karstique et donc un signal en ^{13}C de la MOD enrichi "momentanément".

L'hiver (C, fig. 3.4) est caractérisé par des précipitations principalement sous forme solide et par la mise en place d'un couvert nival. Les basses températures limitent l'activité bactérienne. Les flux vers le système karstique sont faibles (étiage hivernal) du fait du stockage sous forme solide des précipitations dans le couvert nival. En mesurant la fluorescence de la MOD, [Tissier *et al.* \(2013\)](#) observent un signal principalement humique en hiver. L'activité bactérienne limitée et la diminution de l'adsorption dues aux conditions humides et froides entraîneraient certainement un signal appauvri en ^{13}C rejoignant le système.

Le printemps (D, fig. 3.4) est caractérisé premièrement par la fonte de la couverture nivale avec l'augmentation des températures. La température du sol reste faible, limitant toujours l'activité bactérienne. Le flux de fonte se caractérise par une forte concentration en matière organique dissoute, probablement la plus importante de l'année, et un $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ élevé. En effet, la fonte nivale entraîne le lessivage de la matière organique fraîche stockée en automne et peu dégradée du fait des températures hivernales. Ce signal est observé par [Nakanishi *et al.* \(2014\)](#) qui mesurent un enrichissement en ^{13}C associé à une diminution du SUVA¹, validant l'hypothèse d'une matière organique fraîche et peu dégradée. Ce signal est également observé dans les mesures de fluorescence réalisées dans le système de Creux Perrin ([Perrette & Quiers, données non publiées](#)), et à la source de la Roche Saint-Alban par [Tissier *et al.* \(2013\)](#). Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ s'appauvrit au cours de la fonte du fait du lessivage préférentiel de la FHI dont la proportion diminue avec le temps. À la suite de ce premier

1. SUVA = *Specific UV Absorbance* ou absorbance UV spécifique en français. Il se calcule en divisant l'absorbance UV d'un échantillon à 254 nm par sa concentration en carbone organique.

flush, l'augmentation de l'humidité et surtout celle des températures, relancent l'activité bactérienne qui a tendance à augmenter de nouveau les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$.

3.2.1.4 Le $\delta^{13}\text{C}$ des spéléothèmes

Le signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des spéléothèmes correspond au signal de la MOD qui est transféré depuis les sols, sous l'influence des facteurs décrits précédemment. Il existe très peu de données sur le signal du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ dans les spéléothèmes et les eaux d'écoulement en milieu karstique. Actuellement, quelques articles concernent le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ dans les sédiments de grotte (Panno *et al.*, 2004; Polk *et al.*, 2007, 2013) et seulement 3 articles concernent celui des spéléothèmes (Blyth *et al.*, 2013a,?; Li *et al.*, 2014). Ce proxy a été développé seulement très récemment dans les spéléothèmes du fait de la difficulté pour extraire et analyser ce carbone organique avec une résolution temporelle acceptable. La technique d'analyse du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des spéléothèmes développée par Blyth *et al.* (2013a) est basée sur celle réalisée dans les sols et les eaux par Albéric (2011). Elle correspond à la méthode utilisée dans cette thèse et sera décrite par la suite (cf 3.2.2). Si les résultats obtenus dans ces études semblent prometteurs, ces analyses présentent toutefois le désavantage d'être très consommatrices en matériel puisqu'elles nécessitent 2 g de calcite pour l'étude la plus récente (Li *et al.*, 2014).

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ obtenues dans les spéléothèmes varient entre -20.1 et -26.5‰ (Blyth *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014). Les études réalisées sur des sédiments de grotte ont interprété le signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ en termes de changement de type végétation (C3-C4) (Panno *et al.*, 2004; Polk *et al.*, 2007, 2013). Dans le cas des spéléothèmes, les études de Blyth *et al.* (2013) et Li *et al.* (2014) relient les variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ à l'activité microbienne des sols. Blyth *et al.* (2013) associent le signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesuré dans leur stalagmite avec les changements survenant dans le sol. Ces changements surviennent en parallèle des changements de végétation sans être nécessairement contrôlés par ces derniers. Ainsi, la diminution du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ serait ici associée à une diminution de l'activité microbienne, en réponse à une dégradation climatique (augmentation de la pluviométrie). Li *et al.* (2014) expliquent également les variations du signal en $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ par des modifications de l'activité microbienne, et de la végétation dans une moindre mesure, suite aux variations de la température et des précipitations. Ainsi, lors de conditions plus sèches, le temps d'exposition plus important de la matière organique aux processus microbiens entraîne une dégradation plus importante résultant en un appauvrissement en ^{13}C .

La comparaison entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ et d'autres proxies organiques (n-alcanes et $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite) montre une corrélation entre tous ces indicateurs (Blyth *et al.*, 2013). Cette comparaison conforte donc notre choix de croiser plusieurs proxies organiques dans le but d'extraire une information paléoenvironnementale. Les travaux de Blyth *et al.* (2013) et de Li *et al.* (2014) soulignent tout de même l'importance de recherches méthodologiques afin de valider ces hypothèses, ainsi que la nécessité d'améliorer les techniques analytiques.

Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique présente un important potentiel pour reconstruire les réponses de l'environnement aux variations climatiques. L'activité bactérienne et les processus pédologiques impactant la dynamique de la matière organique semblent être les principaux paramètres influençant ce signal. Ces derniers sont la résultante de plusieurs facteurs de contrôle liés notamment au climat, qui ne sont pas toujours clairement identifiables et nécessitent une étude multi-proxies afin de contrôler et valider les hypothèses d'interprétation. Cet indicateur a donc été choisi pour réaliser un couplage avec d'autres proxies organiques pour déterminer leur robustesse et extraire une information paléoenvironnementale en faisant converger leurs interprétations.

3.2.2 Méthodologie de l'extraction et de la mesure du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$

Les analyses du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ ont été réalisées à l'Université de LaTrobe (Melbourne, Australie) sous la direction d'Alison Blyth et de Colin Smith, puis dans un second temps au laboratoire ISTO à l'Université d'Orléans sous la direction de Patrick Albéric. Ces analyses se basent sur la méthode développée par Albéric (2011) pour mesurer le ^{13}C de la matière organique des eaux de surface et des eaux de sols, et adaptée aux spéléothèmes par Blyth *et al.* (2013a).

3.2.2.1 Échantillons

Les analyses de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ ont tout d'abord été réalisées sur l'échantillon **GC-09B** à l'Université de LaTrobe (109 échantillons) avant d'être effectuées sur les 4 stalagmites du réseau Garde-Cavale (**GC-x**, 94 échantillons). Les plans d'échantillonnage ont été déterminés en fonction de la quantité de matériel nécessaire, de la taille des spéléothèmes, ainsi que du temps d'analyse disponible sur les machines. Ainsi, des échantillons d'environ 250 mg (9x3x3 mm) ont été prélevés au micromill de manière continue sur la stalagmite **GC-09B**. Étant donné la qualité du signal lors de ces premières analyses, la quantité de matériel prélevé pour les analyses suivantes a été réduite à 50 mg (6x3x1 mm) sur les autres spéléothèmes afin d'améliorer leur résolution. Cependant, au regard de la taille des stalagmites étudiées et du temps d'analyse disponible, un échantillonnage continu n'a pu être effectué. La stalagmite **GC-13B**, ainsi que la partie récente de **GC-13A** recouvrant la même période, ont été prélevées tous les 2 mm. Un échantillonnage a également été réalisé sur le spéléothème **GC-09A**. Celui-ci est moins résolu du fait de la taille importante de la stalagmite, excepté pour plusieurs zones d'intérêt particulier. Le pas d'échantillonnage de 2 mm a été conservé pour celles-ci, lorsqu'elles présentaient des variations importantes du signal de fluorescence et/ou du signal isotopique de la calcite.

Dans le but d'identifier les sources de la matière organique et les modifications possibles de son signal isotopique lors de son transfert vers les spéléothèmes, des échantillons d'eau souterraine et d'extraits de sols ont également été analysés. Les échantillons d'eau proviennent du système de Garde-Cavale (5 échantillons, salle du Précieux et Creux Perrin ; figure 2.14). Les seconds sont des extraits à l'eau (14 échantillons) de plusieurs échantillons

de sols considérés comme représentatifs des différentes associations sol-végétation pouvant être trouvées au-dessus de ces systèmes. Ces extractions ont été réalisées avec l'aide de Morgane Revol, et le protocole, ainsi que les caractéristiques des sols, sont décrits dans la section 4.2.

3.2.2.2 Procédure d'extraction

L'analyse du pool organique des spéléothèmes est particulièrement sensible aux contaminations organiques. Wynn & Brocks (2014) ont montré dans leur étude que les manipulations, les prélèvements et le stockage des spéléothèmes pouvaient être des facteurs importants de contamination. Pour minimiser ces risques, la surface des stalagmites a également été nettoyée avant échantillonnage à l'acide chlorhydrique (HCl) 1M, pour supprimer une partie de la couche superficielle des spéléothèmes, potentiellement la plus polluée (Blyth *et al.*, 2006; Blyth & Watson, 2009; Blyth *et al.*, 2013; Wynn & Brocks, 2014). L'HCl utilisé pour le nettoyage a été purifié par extraction liquide/liquide au dichlorométhane (DCM) répétée 6 fois. De plus, une attention particulière a été portée lors des prélèvements et des analyses afin de ne mettre les échantillons en contact avec aucun matériau organique.

Tous les échantillons de stalagmite ont été dissous dans l'acide phosphorique H_3PO_4 3M en ratio 1 mL d'acide / 100 mg de calcite (Albéric, 2011; Blyth *et al.*, 2013a). Cet acide a été choisi préférentiellement à l'HCl, afin d'éviter les interférences entre les halogénures et l'oxydant (persulfate de sodium) utilisé pendant les analyses, pouvant entraîner une oxydation incomplète du carbone organique dans le réacteur (Albéric, 2011). Environ 150 mg de calcite en poudre par échantillon a été dissoute dans un volume approximatif de 1,5 mL d'acide pour les analyses réalisées à Melbourne. La quantité de calcite a été réduite à 50 mg pour celles réalisées à Orléans. 1,5 mL d'eau milliQ a été ajoutée aux 0,5 mL d' H_3PO_4 pour ces échantillons afin 1) d'augmenter le volume de solution pour permettre de répliquer des analyses si besoin, et 2) de diminuer la concentration en acide afin de limiter le risque de la formation d'un précipité de phosphate de calcium au sein de l'aiguille d'injection ou de l'instrument. Les volumes injectés étant 10 fois supérieur à ceux utilisés à Melbourne (100 μL contre 10 μL), la qualité du signal n'a pas été affectée par cette diminution de la concentration. Dans leur travaux, Blyth *et al.* (2013a) n'ont détecté aucun problème de précipitation lors de leur analyses, notamment en maintenant un flux d'eau permanent dans le système. Pour s'affranchir du signal du carbone inorganique dans les échantillons, le CO_2 dissous a été retiré à l'aide d'un concentrateur rotatif sous vide pendant 1h à l'Université de LaTrobe (Blyth *et al.*, 2013a), et sous flux d'azote pendant 3 minutes à l'Université d'Orléans (Albéric, 2011). Ces deux méthodes ont été testées et validées dans les travaux précédemment cités. Les échantillons ont ensuite été transvasés dans des vials de 1,8 mL pour être analysés en LC-IRMS (flow-injection mode). Dans la mesure du possible, ils ont été analysés rapidement à la suite de l'extraction, même si Blyth *et al.* (2013a) ont montré que les échantillons pouvaient être analysés au moins jusqu'à 24h après le dégazage sans qu'une redissolution du CO_2 atmosphérique ne soit détectable.

Les échantillons d'eau et les extraits de sol ont été directement acidifiés avec quelques gouttes d'acide phosphorique 3M puis ont été purgés du CO_2 dissous de la même manière que les échantillons de stalagmite (Albéric, 2011).

Pour chaque technique, les blancs ont été réalisés de la même façon que les échantillons, sans ajout du matériel organique.

3.2.2.3 Analyse

Pour les deux laboratoires, la méthode d'analyse en LC-IRMS est identique (cf figure 3.5), et les spécificités concernant les paramètres d'analyse et réactifs utilisés sont renseignées dans le tableau 3.2. L'appareil se compose d'une chromatographie liquide (LC) directement couplée à une interface d'oxydation en phase liquide, et reliée ensuite à un spectromètre de masse (IRMS). Ce LC-IRMS est ici utilisé sans colonne, en "flow-injection mode", pour analyser l'ensemble des composés simples et macromoléculaires (*bulk mode analysis*). 10 μl à 100 μl (respectivement à l'Université de LaTrobe et à l'ISTO) sont injectés dans l'instrument via un préleveur automatique et circulent avec la phase mobile (un acide dilué) à un débit de 300 $\mu\text{l}/\text{min}$. Les composés sont oxydés en CO_2 dans le réacteur maintenu à 100°C, grâce à l'ajout de réactifs dans la phase mobile : un oxydant (H_3PO_4) et un catalyseur (persulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$). Ce CO_2 est ensuite extrait de la phase liquide grâce à une unité de séparation à flux d'hélium (counter-flow) pour être introduit dans le spectromètre de masse (figure 3.5).

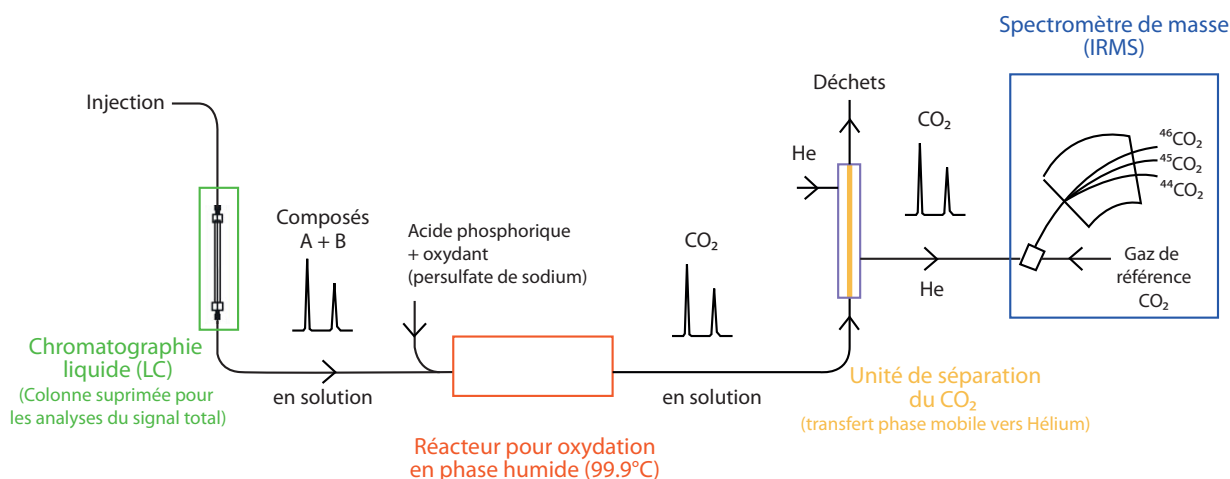


Figure 3.5 – Méthode d'analyse du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ en LC-IRMS (d'après Elsner *et al.*, 2012).

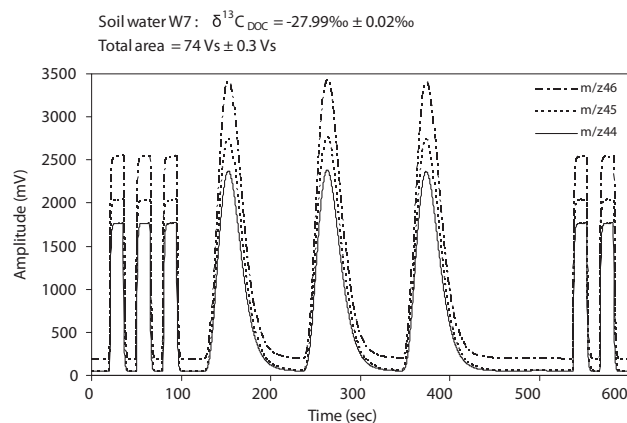


Figure 3.6 – Exemple d'une mesure du $\delta^{13}\text{C}$ répliquée trois fois, encadrée par 3 pulses de gaz de référence en entrée et 2 en sortie (Albéric, 2011).

Afin d'éviter tout regazage (Albéric, 2011), les réactifs et la phase mobile sont dégazés sous vide dans un bain à ultrasons pendant 1h préalablement aux analyses, et sont ensuite maintenus constamment sous flux d'hélium (Albéric, 2011; Blyth *et al.*, 2013a). Les valeurs isotopiques du carbone sont exprimées en pour mille par rapport au standard international Vienna Pee Dee Belemnite (-22,92 ‰ VPDB) et calculées par le logiciel Isodat (Thermo Scientific). Le $\delta^{13}\text{C}$ du gaz de référence est normalisé en utilisant différents standards allant de molécules simples à plus complexes (voir tableau 3.2). Chaque analyse commence par plusieurs injections du gaz de référence pour déterminer le $\delta^{13}\text{C}$ de l'échantillon et se termine par plusieurs pulses de contrôle (exemple figure 3.6). Chaque échantillon est répliqué 3 fois, pendant la même analyse à l'ISTO et en 3 analyses différentes à Melbourne.

Blyth *et al.* (2013a) ayant montré que l'extraction et l'analyse donnaient des résultats stables et répétables (écart-type de 0,1 ‰ sur 21 échantillons), les triplicats ont une fonction de contrôle. Les échantillons dont l'écart-type des triplicats est supérieur à 0,4 ‰ ont fait l'objet d'une nouvelle analyse, sauf si cette valeur a pu être clairement imputée à un seul des triplicats. Dans ce cas, seules les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des deux autres triplicats ont été prises en compte. La stabilité de l'appareil au cours du temps est contrôlée en comparant les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de référence avec les valeurs mesurées. Les blancs sont analysés régulièrement (tous les 5 à 10 échantillons) pour contrôler la propreté du système, mais également afin de le nettoyer et limiter les contaminations inter-échantillons.

Tableau 3.2 – Paramètres des analyses du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ en LC-IRMS à l'Université de LaTrobe et à l'Université d'Orléans.

Université de LaTrobe		ISTO (Université d'Orléans)	
Extraction	250 mg CaCO_3 + 1,5 mL H_3PO_4 3M	50 mg CaCO_3 + 0,5 mL H_3PO_4 3M + H_2O	
Instrument	LC-IRMS Thermo Scientific	LC-IRMS Thermo Scientific	
<i>Préleveur automatique</i>	Accela	-	
<i>Pompe</i>	Accela 600	Surveyor MS	
<i>Interface</i>	LC-Isolink	LC-Isolink	
<i>Spectromètre de masse</i>	Delta-V plus	Delta-V Advantage	
Réactifs			
<i>Catalyseur</i>	Produit H_3PO_4	Produit H_3PO_4	Débit 50 $\mu\text{L}/\text{min}$
<i>Oxydant</i>	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$	40 $\mu\text{L}/\text{min}$
<i>Phase mobile</i>	$\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{H}_2\text{O} + \text{H}_3\text{PO}_4$	300 $\mu\text{L}/\text{min}$
	[C] 1,28M 0,13M pH4-4,2	[C] 1,5M 0,4M pH2	
Température du réacteur	99,9°C	100°C	
Standards	USGS-41 acide glutamique +37,63 ‰ standards d'acides aminés "maison" de -7,6 à -31,6 ‰	IAEA-C6 sucrose -10,8 ‰ IAEA-C8 acide oxalique -18,3 ‰ USGS-40 acide glutamique -26,39 ‰ IHSS-1S101F Suwannee River acide fulvique -27,6 ‰	
Pulses de référence	2 en entrée et 3 en sortie	3 en entrée et 2 en sortie	
Volume d'injection			
<i>Echantillon</i>	10 μL	100 μL	
<i>Blanc</i>	20 μL	100 μL	

3.2.3 Résultats méthodologiques

3.2.3.1 Université de LaTrobe

Les échantillons ont été analysés sur 8 runs d'analyse (figure 3.7). Afin de pouvoir couvrir la totalité de la stalagmite, un échantillon sur deux a été analysé dans un premier temps (runs 1 à 4). Les échantillons manquants ont été analysés par la suite (runs 5 à 8). Une coupure de l'arrivée de l'azote a stoppé le run 5 en cours d'analyse. Les échantillons n'ayant pu être analysés ont été mesurés lors du run 6. Ces 2 runs ont donc été regroupés ensemble. Il en est de même pour les runs 7 et 8 dont les échantillons ont été passés en 2 temps. Les mesures réalisées sont répétables (écart-type moyen de 0,13 ‰ sur les répliquats, 164 analyses).

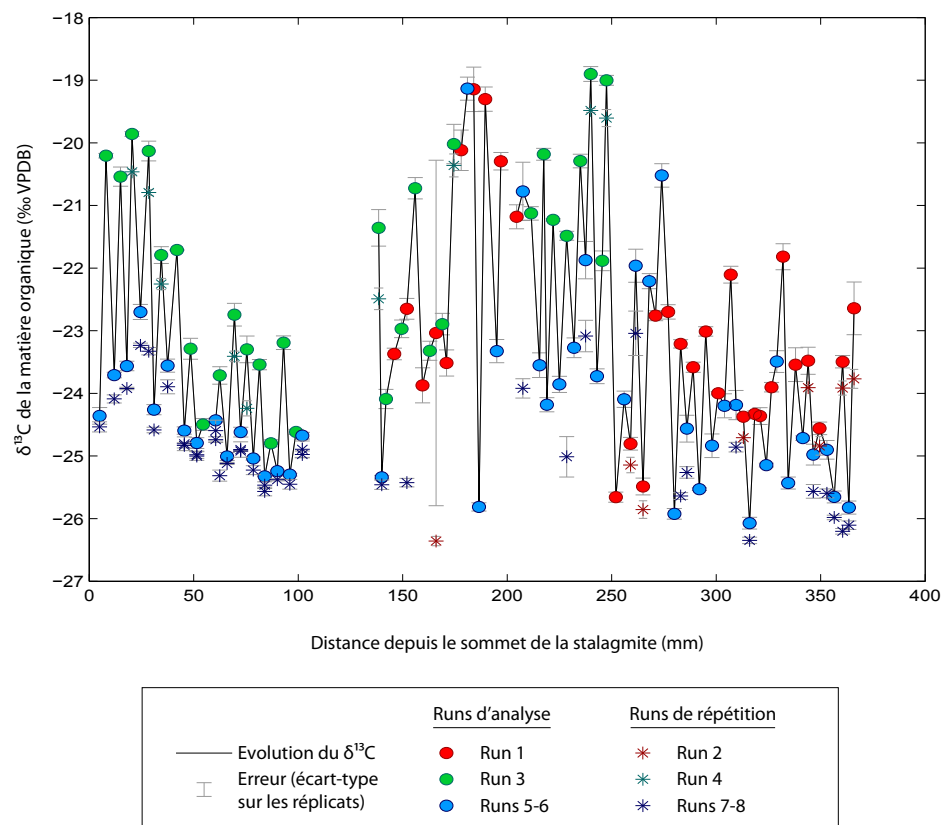


Figure 3.7 – Valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesurées et reportées le long de l'axe de croissance de la stalagmite **GC09B** lors des différents runs d'analyse effectués à l'Université de LaTrobe.

Les runs 2, 4 et 7-8 sont des runs de répétitions des runs 1, 3 et 5-6 respectivement. Ils contiennent les quelques échantillons avec un écart-type supérieur à 0.4 ‰ ainsi que d'autres échantillons ré-analysés pour vérifier la répétabilité d'un run à l'autre. Ces runs de répétition ont été effectués dans la journée suivant le run qu'ils répètent. L'écart-type moyen pour la répétition du run 5-6 est faible (0.14 ‰) mais est un peu plus élevé pour les répétitions des runs 1 et 3 (respectivement 0,31 et 0,47 ‰). Enfin, une très forte différence est observée pour les quelques échantillons des runs 1 et 3 répétés lors du run 7-8 (écart-type moyen de 1,91 ‰).

Dans tous les cas, les valeurs du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des runs de répétitions sont plus négatives que celles des premiers runs. Blyth *et al.* (2013a) observent au contraire une augmentation des valeurs isotopiques des échantillons lorsqu'ils sont analysés le lendemain ou quelques jours plus tard, qu'ils associent à l'interaction entre l'acide et la matière organique (ex. floculation d'une partie des composés organiques). Un regazage ou des interactions avec l'acide auraient eu l'effet inverse de celui observé sur les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ dans notre cas.

L'hypothèse pouvant expliquer cette diminution du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ est que le type de matériel organique mesuré n'est pas le même. En effet, le matériel ayant floculé sous l'influence des conditions acides est déposé sur les bords par l'action centrifuge du concentrateur rotatif lors du dégazage (Blyth *et al.*, 2013a). Il se peut que ces molécules finissent par se mélanger aux autres au cours du temps, modifiant ainsi la fraction mesurée. Plusieurs travaux font état d'une floculation préférentielle de la FHO à haut poids moléculaire de la matière organique (Sholkovitz *et al.*, 1978). Ce phénomène a également été observé sur les extractions de matières organiques réalisées sur des spéléothèmes pour des mesures de concentration en carbone organique (Quiers *et al.*, 2015). Or Albéric (2011) et Kaiser *et al.* (2001) observent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ respectivement 1,5 et 3 ‰ plus négatives pour la FHO extraite sur résine XAD-8. Cette plus forte négativité est attribuée à la nature différente de cette fraction : un matériel moins dégradé, généralement peu transformé par rapport à sa source (Kaiser *et al.*, 2001). Elle comporte des abondances plus faibles d'alcane, enrichis en ^{13}C , et une quantité importante de composés aromatiques, souvent associés aux dérivés de la lignine, ce qui expliquerait sa valeur plus négative de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$. Une légère modification de la proportion des fractions mesurées peut donc être à l'origine de ces valeurs plus négatives.

Cependant, cette diminution des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ est également valable pour les échantillons du run 5-6 analysés plus tard par rapport aux échantillons des runs 1 et 3 entre lesquels ils s'intercalent. Il est donc probable que les variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ observées entre 2 points ne soient pas des variations "réelles", mais pouvant résulter d'un ou plusieurs biais analytiques (par exemple, contamination, floculation ou dérive instrumentale) dont il est difficile d'évaluer la part dans ces variations.

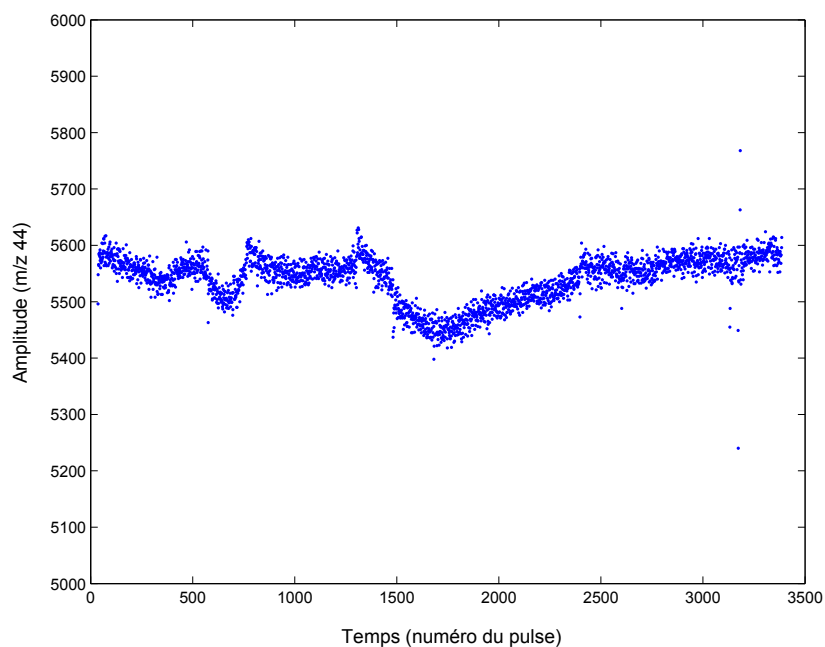


Figure 3.8 – Évolution de l'amplitude du gaz de référence (m/z 44) au cours du temps.

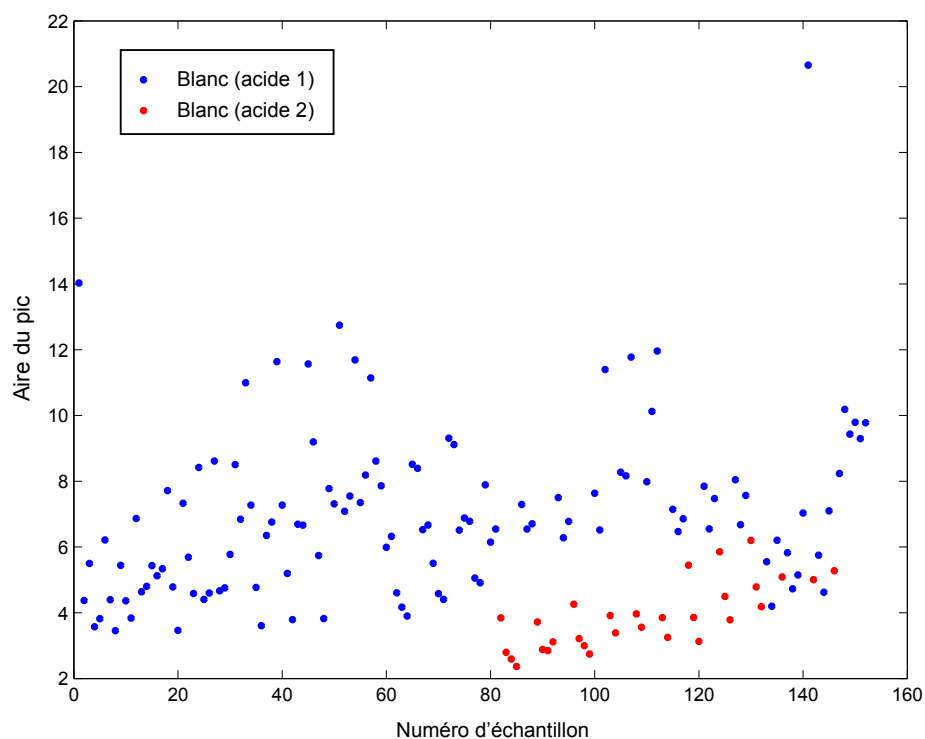


Figure 3.9 – Évolution des aires des pics des blancs mesurés durant les analyses. Les blancs réalisés avec le premier acide sont présentés en bleu et en rouge pour ceux avec le second acide.

Si une dérive de l'instrument est peu probable au regard de la stabilité de l'amplitude du gaz référence (variations de 200 m/z 44, figure 3.8), il est possible qu'une contamination due à l'acide ou au passage des échantillons dans l'appareil modifie les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesurées. L'acide utilisé pour les extractions a été renouvelé entre les runs 4 et 5, et leur amplitude montre une légère différence puisque les pics du premier acide présentent une aire supérieure (6,98 en moyenne) à ceux du second (3,88 en moyenne, figure 3.9). On peut supposer que le premier acide est "moins propre" que le second ce qui peut expliquer une différence dans les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des échantillons. Cette différence tend cependant à disparaître lors du dernier run. Par ailleurs, les aires des pics des blancs sont en moyenne 20 fois inférieures à celles des échantillons. La différence entre les deux blancs pourrait donc expliquer une partie des variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des échantillons mais n'en n'est pas obligatoirement la seule cause.

Une modification des réactifs (propreté, dégazage) a également pu être à l'origine d'une évolution des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesurées en modifiant l'efficacité de l'oxydation du carbone. Un problème de redissolution du carbone inorganique est cependant à exclure car les échantillons auraient présentés une augmentation de leur valeur isotopique.

Ces données sont donc difficilement utilisables, à la fois en termes de valeur absolue puisque les répétitions montrent une différence importante, et en termes de variation du signal puisque celui-ci semble être influencé par un ou plusieurs biais expérimentaux. Leur nature et leur proportion dans les variations des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ sont difficiles à identifier et évaluer, ce qui ne permet pas d'appliquer une correction. En l'absence de correction et sans possibilité d'évaluer l'influence de ces biais expérimentaux sur les données, celles-ci ne seront pas utilisées par la suite pour l'interprétation du signal paléoenvironnemental.

3.2.3.2 ISTO, Université d'Orléans

Les échantillons ont été analysés sur trois jours (150 analyses). Les valeurs mesurées et les valeurs de référence de $\delta^{13}\text{C}$ des standards montrent une dérive d'environ 3 ‰. Celle-ci a été corrigée en appliquant la relation linéaire entre les valeurs mesurées et théoriques des standards aux valeurs mesurées des échantillons. Cependant, cette correction s'est révélée insuffisante car même une fois corrigées, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des standards présentent tout de même une diminution au cours du temps (figure 3.10).

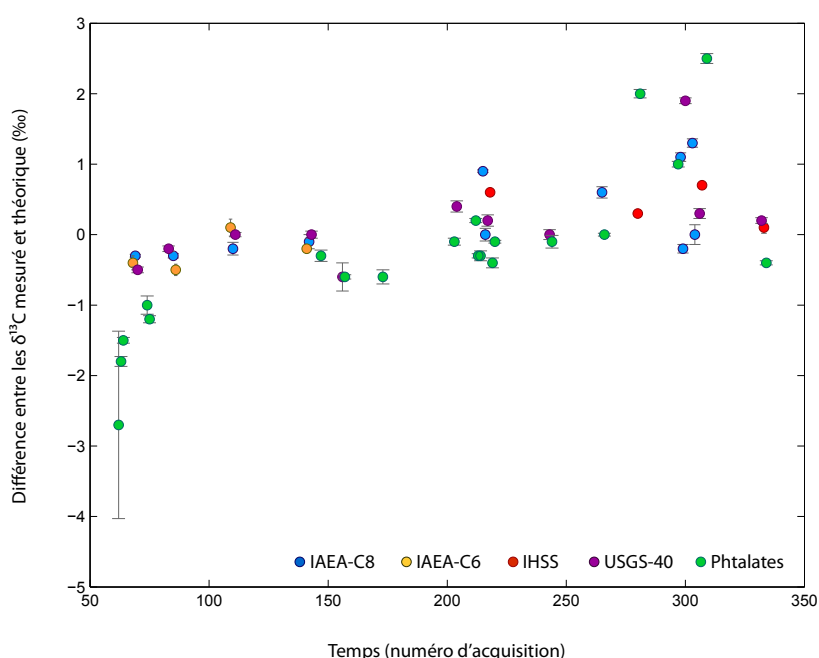


Figure 3.10 – Évolution des écarts des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ mesurées par rapport à la valeur de référence des standards au cours du temps (représenté par le numéro d'acquisition de la mesure).

Une dérive de l'appareil reste peu probable, d'une part car sa stabilité a été vérifiée, et d'autre part car les standards présentent des dérives différentes. Une évolution ou une contamination des standards pourrait également expliquer cette dérive des valeurs. Une contamination de l'acide utilisé ou du système est aussi envisageable. L'aire des pics des blancs est très variable au cours des analyses (entre 1 et 41 Vs), notamment pour ceux contenant de l'acide, ce qui semble appuyer l'hypothèse d'une contamination. En moyenne, l'aire des blancs représente près de 15 % du signal des échantillons et pourrait donc avoir un impact sur le $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesuré. Cependant, l'augmentation de l'aire des pics des blancs est aléatoire et ne présente pas de structure au cours du temps, comme c'est le cas pour les standards. Si une contamination est tout à fait probable, il reste cependant difficile d'identifier avec certitude la source de la dérive dans les données.

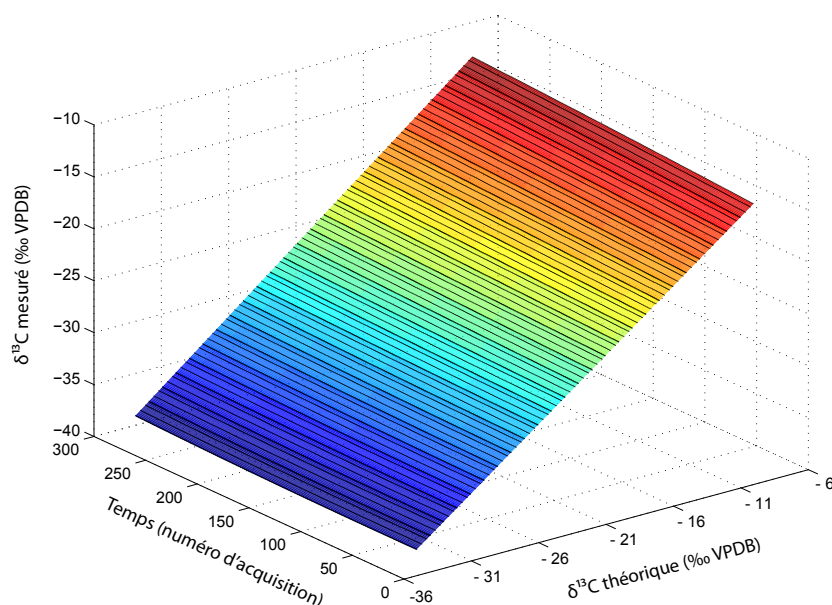


Figure 3.11 – Grille de correction des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ basée sur l'évolution des valeurs des standards au cours du temps et leur variation par rapport aux valeurs théoriques.

Pour contourner ce problème, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des échantillons ont donc été finalement corrigées à l'aide d'une grille de correction bilinéaire (figure 3.11) basée sur l'évolution des valeurs isotopiques des standards au cours du temps ainsi que leur écart à la mesure théorique. Elle est basée une première régression linéaire des valeurs observées de $\delta^{13}\text{C}$ des standards au cours du temps (représenté par le numéro d'acquisition de la donnée). Une seconde régression linéaire entre les précédents coefficients directeurs et les valeurs théoriques de $\delta^{13}\text{C}$ des standards a été réalisée pour obtenir la grille de correction présentée dans la figure 3.11. Cette grille a été utilisée pour obtenir des données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ corrigées à partir des données mesurées des échantillons et de leur numéro d'acquisition.

Pour vérifier la validité de cette correction, les runs d'analyse ont été comparés à des runs de répétitions mesurés par la suite (figure 3.12). L'écart-type est faible (0,3 et 0,45 ‰ respectivement pour **GC-13B** et **GC-09A**), sauf dans le cas de la stalagmite **GC-13A** qui présente un écart-type moyen de 1,5 ‰. Une forte augmentation de l'aire des pics des blancs a été observée avant l'analyse de ces échantillons, pouvant donc provenir soit d'une contamination interne au système (contamination inter-échantillons), soit d'une contamination externe de l'acide ou l'eau contenue dans les blancs. Des échantillons d'eau de surface provenant d'une autre étude ont également été analysés avant. Les échantillons provenant de **GC-13A** ont été analysés peu de temps après. Malgré les nombreux blancs analysés pour nettoyer le système, il se peut que les échantillons aient été contaminés par le système ou l'acide.

La valeur absolue du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ obtenue pour les échantillons de stalagmite est donc très incertaine du fait de la dérive des valeurs. Celle-ci n'ayant pas été clairement identifiée, la valeur absolue du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ est donc difficilement interprétable. Cependant, excepté quelques échantillons, les répétitions présentent les mêmes variations que les analyses. La variation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ le long des spéléothèmes peut donc être utilisée, avec précaution, pour l'interprétation en tenant compte du biais sur les valeurs absolues.

Tableau 3.3 – $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des échantillons d'eau et d'extraits de sols mesurés à l'ISTO et corrigés à partir de la correction bilinéaire. Tous les extraits de sols correspondent à des extraits à l'eau réalisés à partir de l'horizon A (sauf autre spécification).

Échantillons			$\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$
<i>Eau d'infiltration</i>	Creux Perrin	Rivière	-26,48
		Infiltration	-29,84
	Salle du Précieux	Collecteur	-26,68
		Infiltration rapide	-26,08
		Ruisseau	-28,25
<i>Extrait de sol</i>	Leptosol folique	couvert forestier	-26,96
		couvert forestier	-27,04
		couvert prairial	-25,86
		couvert prairial	-26,03
	Cambisol	couvert prairial	-27,85
		couvert prairial	-27,73
		couvert prairial - horizon B	-27,23
		couvert prairial - horizon B	-27,25
		couvert forestier	-26,06
		couvert forestier	-26,23
		pâturage	-28,33
		pâturage	-28,41
	Podzol	lande	-26,56
		lande	-26,63

Les échantillons d'eau et de sols ont été analysés en début de séquence (valeurs dans le tableau 3.3). Des réplicats de l'extraction de la matière organique des sols ayant été réalisés, ils ont été utilisés ici pour répéter les analyses. L'écart-type entre ces répétitions est très faible (0,07 ‰). La quantité d'acide utilisée pour acidifier les échantillons est beaucoup plus faible que pour les stalagmites ce qui a pu limiter les contaminations. Par ailleurs, ces échantillons ont été analysés en début de séquence et avant les échantillons extérieurs, le risque de contamination inter-échantillon est donc plus faible. Si la valeur absolue du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ mesuré est à prendre avec précaution, les différences entre échantillons peuvent être considérées comme fiables.

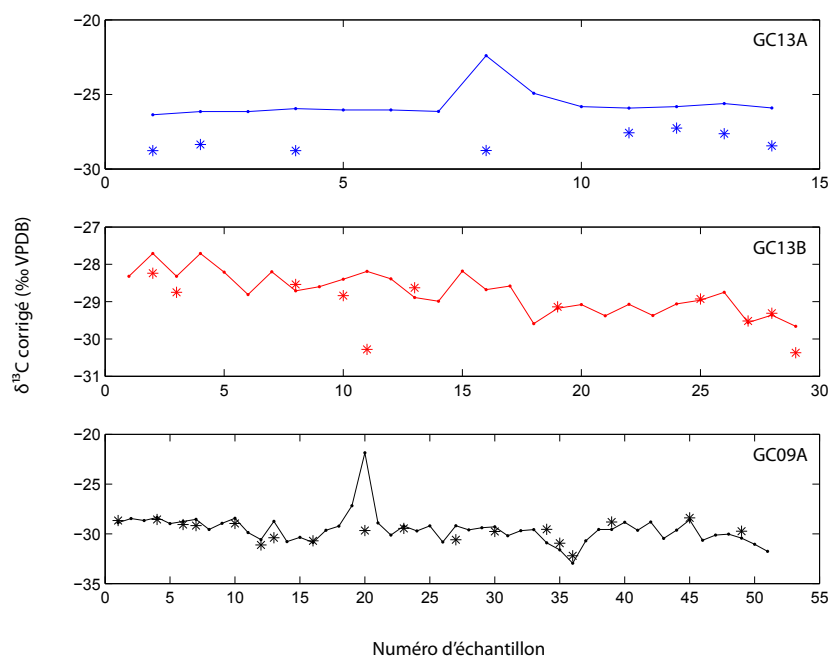


Figure 3.12 – Valeurs corrigées des $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons de stalagmite mesurés à Orléans et des échantillons répétés.

3.2.3.3 Comparaison inter-laboratoire

Dans le but de reconstituer une partie de la chronique Holocène à l'aide des 3 stalagmites du réseau de Garde-Cavale présentées dans le chapitre 2, il était nécessaire de pouvoir comparer entre eux les échantillons mesurés dans les deux laboratoires. Afin de pouvoir comparer les données, certains échantillons de **GC-09B** ont été analysés à Orléans. Leurs valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ ont été corrigées par la relation linéaire entre les valeurs mesurées et les valeurs théoriques des standards car l'appareil présentait une dérive d'environ 3‰. Aucune autre dérive n'ayant été détectée, ces valeurs corrigées ont été comparées aux valeurs obtenues à l'Université de LaTrobe sans utilisation de la grille de correction précédemment citée. Le graphe 3.13 présente les deux jeux de données reportées le long de la stalagmite. Ils présentent un écart-type moyen de 2,7 ‰ avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ très majoritairement inférieures pour les échantillons mesurés à Orléans.

Aucune corrélation n'a pu être établie ($R^2 = 0,01$) entre les deux jeux de données, ne permettant pas d'appliquer une correction. Les données sont donc difficilement comparables. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces écarts. Une contamination des échantillons durant la période de temps (presque 1 an) entre les deux analyses a été la première hypothèse suggérée. Cependant, les analyses sont effectuées sur la matière organique totale et non sur des composés organiques spécifiques présents à l'état de trace. Elles sont

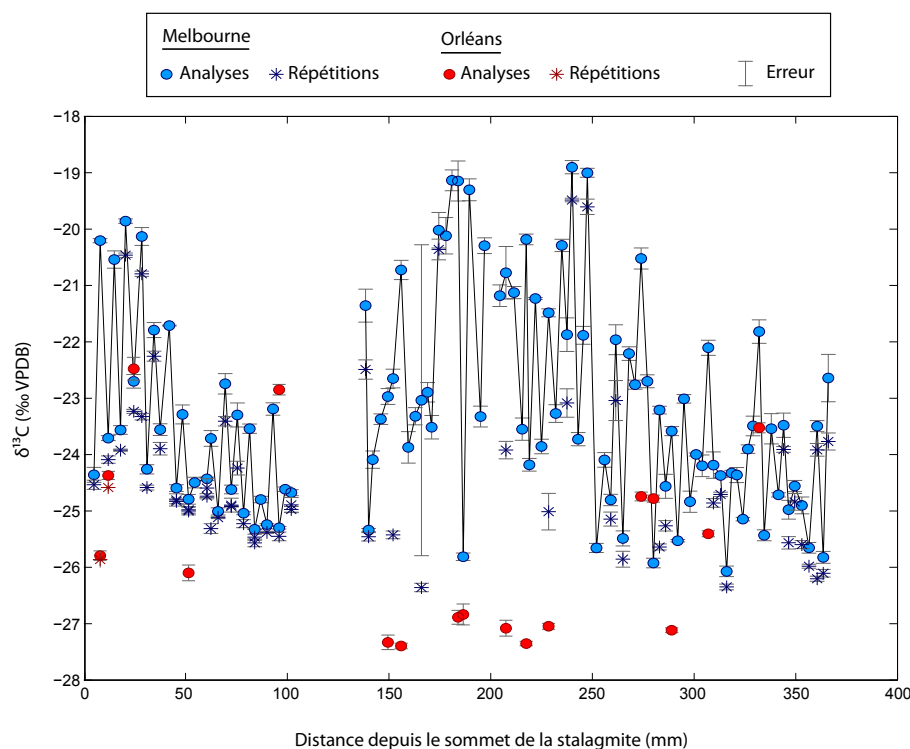


Figure 3.13 – Comparaison des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons de GC09B mesurés dans les deux laboratoires.

donc moins sensibles aux apports externes de composés organiques. De plus, au regard des conditions de stockage (dans une feuille d'aluminium, à l'intérieur de sachets hermétiques), cette hypothèse paraît peu probable.

Les techniques de dégazage sont différentes mais ont toutes deux été testées et validées lors des précédents travaux (Albéric, 2011; Blyth *et al.*, 2013a). La technique utilisée à Orléans a seulement été testée sur des échantillons d'eau et des extraits de sols et aurait pu paraître insuffisante au regard des concentrations en carbonates importantes des échantillons de spéléothèmes. Cependant, si le dégazage n'avait pas été suffisant, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des échantillons mesurés à Orléans auraient été supérieures à celles obtenues à Melbourne.

En revanche, le flux d'azote n'entraîne pas de dépôt des matières flocculées sur les parois des vials comme le concentrateur rotatif sous vide. Un mélange des différentes fractions de la matière organique est donc probable. La proportion de ces fractions mesurées étant différente entre les deux méthodes, cela pourrait expliquer les différences de valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (voir plus haut). Les différences de concentration des réactifs et/ou le type de produits utilisés (tab. 3.2) pourraient également être à l'origine de différences dans les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$. En effet, le catalyseur et l'oxydant, ainsi que la phase mobile présentent

des concentrations et des débits plus faibles à Melbourne qu'à Orléans. Une modification de ces réactifs pourrait entraîner une différence dans l'oxydation et donc un artéfact dans la mesure du rapport isotopique.

Ces données sont donc difficilement comparables et nécessiteraient plusieurs tests pour identifier clairement les différents biais et proposer un protocole et/ou une correction adaptées. Plusieurs tests faisant varier la concentration, le débit et le type de réactifs pour un même échantillon standard pourraient permettre d'évaluer l'influence de ces derniers sur la mesure du rapport isotopique. De même, des tests sur les méthodes de dégazage et sur l'influence de la floculation et/ou des modifications liées aux conditions acides, pourraient permettre d'identifier la proportion de la dérive liée à ces processus. Enfin, une méthode de calibration basée sur la construction d'une "courbe de dégazage" permettrait d'améliorer la robustesse des résultats mesurés. Celle-ci pourrait être construite à partir de différentes mesures du même échantillon à différents temps de dégazage. La valeur de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ correspondrait alors au plateau de la courbe, atteint après dégazage total de l'échantillon. Cette courbe permettrait également d'obtenir la proportion du signal du carbone organique et inorganique par comparaison entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de l'échantillon non dégazé, et de l'échantillon après dégazage total.

Résumé :

- analyse discontinue du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ de tous les spéléothèmes dans deux ; laboratoires différents
- réduction du prélèvement de 150 mg à 50 mg de calcite ;
- résultats obtenus à LaTrobe University : écart-type important entre les répétitions dont la cause est difficilement identifiable (évolution des réactifs, mélange de plusieurs fractions organiques, contamination) = données difficilement exploitables ;
- résultats obtenus à l'ISTO (Université d'Orléans) : évolution du $\delta^{13}\text{C}$ des standards corrigée à l'aide d'une grille combinant le biais du $\delta^{13}\text{C}$ par rapport au $\delta^{13}\text{C}$ théorique en fonction du temps = valeurs absolues non exploitables mais utilisation possible des variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ avec précaution ;
- comparaison inter-laboratoires : résultats différents pour les mêmes échantillons sans distinction de la cause de ces différences ;
- **exploitation difficile des données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ des spéléothèmes obtenues dans cette étude.**

3.3 Les HAP, marqueurs des pollutions anthropiques

3.3.1 État de l'art

3.3.1.1 Nature et source des HAP











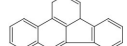







Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des molécules composées de 2 noyaux aromatiques ou plus (cycles benzéniques), constitués essentiellement d'atomes de carbone et d'hydrogène (tableau 3.4). Ils sont formés lors de la combustion incomplète, soit de manière naturelle (ex. feux de forêts, volcanisme), soit anthropique (combustion de fuels fossiles, déchets industriels, feux agricoles). Les émissions liées aux activités humaines sont la source prédominante des HAP dans l'atmosphère depuis 1850 (Baek *et al.*, 1991).

Les sources anthropiques majoritaires sont domestiques (50% des émissions en Europe et Amérique du Nord), principalement dues au chauffage résidentiel. Le transport, et majoritairement le transport routier, est quant à lui la seconde source de ces émissions. Les autres sources anthropiques proviennent de l'industrie et de l'agriculture. Ces composés peuvent être transportés sur de longues distances (Masclet *et al.*, 1988; Baek *et al.*, 1991; Aamot *et al.*, 1996) et se retrouvent dans tous les compartiments environnementaux, du fait de leur persistance et d'une émission constante. Ils ont donc fait l'objet de nombreuses études en raison de leur caractère cancérigène et mutagène (Nielsen *et al.*, 1996; Boffetta *et al.*, 1997; Cachada *et al.*, 2012; Wickliffe *et al.*, 2014) et 16 de ces composés ont été classés comme prioritaires par l'agence de Protection de l'Environnement américaine (US-EPA, tableau 3.4). En France, l'émission et la concentration de ces composés sont réglementées. Par exemple, la somme des concentrations de BbF, BkF, BghiP et IP doit être inférieure à 0,1 µg/L dans les eaux destinées à la consommation. Du fait de l'importance de la littérature sur ces molécules, de leur persistance dans tous les environnements et de la variété de leurs propriétés physico-chimiques (gradient de volatilité, d'hydrophobicité), ces molécules sont des traceurs efficaces des contaminants organiques atmosphériques. Ces propriétés permettent également de les utiliser en tant que marqueur des sources de matière organique discriminées par la circulation en fraction soluble ou en fraction particulaire.

3.3.1.2 Sensibilité des milieux de montagne aux HAP

Malgré leur importance en terme de santé publique, les propriétés de transfert des HAP entre les différents compartiments environnementaux ne sont pas toujours bien déterminées. Ces composés peuvent être présents dans l'atmosphère sous 2 phases différentes : une phase gazeuse et une phase particulaire. Ils sont d'abord générés en phase gazeuse puis adsorbés sur des particules durant leur condensation due au refroidissement post-combustion. Ce changement de phase est plus ou moins rapide selon la volatilité des molécules.

Tableau 3.4 – Structure moléculaire des HAP définis comme prioritaires par l'US-EPA ([Ravindra et al. , 2008](#)). * Non inclus dans la liste prioritaire; D = non listé comme cancérigène; B2 = probablement cancérigène.

 <i>naphthalene</i> * $C_{10}H_8$	 <i>acenaphthylene</i> (D) $C_{12}H_8$	 <i>acenaphthene</i> $C_{12}H_{10}$
 <i>fluorene</i> (D) $C_{13}H_{10}$	 <i>phenanthrene</i> (D) $C_{14}H_{10}$	 <i>anthracene</i> (D) $C_{14}H_{10}$
 <i>fluoranthene</i> (D) $C_{16}H_{10}$	 <i>pyrene</i> (D) $C_{16}H_{10}$	 <i>benzo[a]anthracene</i> (B2) $C_{18}H_{12}$
 <i>chrysene</i> (B2) $C_{18}H_{12}$	 <i>benzo[b]fluoranthene</i> (B2) $C_{20}H_{12}$	 <i>benzo[k]fluoranthene</i> $C_{20}H_{12}$
 <i>benzo[j]fluoranthene</i> $C_{20}H_{12}$	 <i>benzo[a]pyrene</i> (B2) $C_{20}H_{12}$	 <i>benzo[e]pyrene</i> $C_{20}H_{12}$
 <i>dibenz[a,h]anthracene</i> (B2) $C_{22}H_{14}$	 <i>benzo[g,h,i]perylene</i> (D) $C_{22}H_{12}$	 <i>indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i> (B2) $C_{22}H_{12}$

En plus de ces changements de phase, les HAP dans l'atmosphère peuvent être ([Birgül et al. , 2011](#)) :

- dégradés par réaction chimique ou photochimique ;
- transportés avec les masses d'air (en phase gazeuse ou particulaire) ;
- déposés, soit par dépôt humide, soit par dépôt sec ;
- revolatilisés après dépôt.

Les mécanismes de dépôts permettent le transfert de ces contaminants aux autres compartiments environnementaux : les sols, l'eau, les végétaux ou encore la faune, principalement par des processus de bioaccumulation. Les concentrations en polluants organiques volatiles dans différents médias sont donc le résultat de la dynamique des processus de dépôt et volatilisation. Les plus fortes concentrations surviennent lorsque le taux de dépôt est très supérieur au taux de volatilisation ([Daly & Wania, 2005](#)).

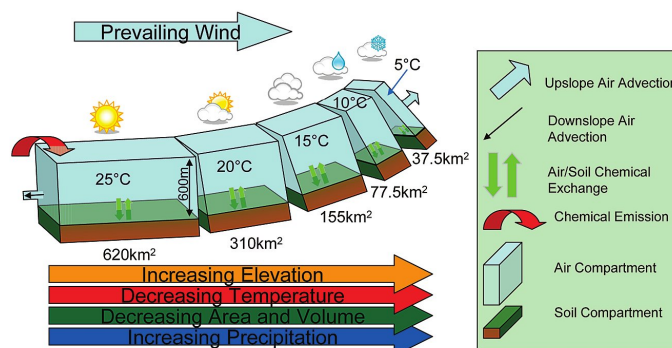


Figure 3.14 – Schéma conceptuel des mécanismes favorisant le dépôt des polluants organiques en montagne (Wania & Westgate, 2008).

Les milieux de montagne fonctionnent comme des accumulateurs de HAP. Ainsi, de faibles températures et de forts taux de précipitations, qui sont caractéristiques des milieux de montagne en région tempérée, favorisent ces dépôts et expliquent en partie les fortes concentrations de contaminants en altitude (Daly & Wania, 2005; Wania & Westgate, 2008; Tremolada *et al.*, 2009, figure 3.14). D'autres facteurs comme les précipitations nivales, les nuages, ou le brouillard, qui sont des phénomènes réguliers en montagne, accentuent les processus de dépôt (Baek *et al.*, 1991; Daly & Wania, 2005). En effet, les flocons de neige et les gouttes d'eau du brouillard sont considérées comme plus efficaces que les gouttes de pluie pour piéger les HAP du fait de leur plus grande surface spécifique. La couverture végétale est également un important capteur, et le dépôt en phase sèche est souvent plus important en milieu forestier qu'en milieu ouvert (McLachlan & Horstmann, 1998). Le couvert forestier réduit également la capacité de volatilisation de ces contaminants. En région tempérée, les moyennes montagnes sont donc des environnements ayant tendance à accumuler ces contaminants organiques du fait de leurs caractéristiques climatiques et environnementales.

Par ailleurs, dans certains cas comme dans celui des Alpes, des sources d'émissions locales importantes s'ajoutent aux sources éloignées (Marchand *et al.*, 2004). Les fonds de vallées et les versants eux-mêmes, concentrent des activités résidentielles, industrielles, agricoles et touristiques, qui sont une source importante de HAP (Golly, 2014; Golly *et al.*, 2015). Les caractéristiques des mouvements atmosphériques en montagne, comme les inversions thermiques, le barrage de masses d'air et en particulier les vents diurnes, permettent l'accumulation de ces contaminants en milieu montagnard (Daly & Wania, 2005). Une forte émission locale s'associe donc à la sensibilité de ces milieux.

Plusieurs travaux ont mis en évidence le rôle de puits de l'environnement alpin pour les HAP, comme pour d'autres polluants organiques atmosphériques. La surveillance de ces milieux s'est donc accrue notamment pour des raisons de santé publique. Les milieux de montagne concentrent en effet une grande variété de communautés animales et végétales

uniques ayant développé des adaptations spécifiques à l'altitude (Daly & Wania, 2005). Or ces contaminants affectent à la fois la faune et la flore d'altitude. Ainsi les HAP ont été associés à des ruptures symbiotiques limitant la diversité des lichens (Blasco *et al.*, 2008), des nécroses ou des diminutions de production de la biomasse des plantes vasculaires (Desalme *et al.*, 2013) ou encore à des lésions toxico-hépatiques chez les poissons (Vives *et al.*, 2004). Si des études ont été réalisées sur les mousses, les lichens ou les populations aquatiques de certains lacs d'altitude, les impacts sur les chaînes trophiques par exemple sont encore méconnus.

En plus de l'aspect écologique, la potentialité d'un impact sanitaire sur les populations vivant dans ces milieux ou utilisant ces ressources est à surveiller. Outre la contamination de l'air et la contamination alimentaire par bioaccumulation, ces polluants peuvent avoir un impact important sur la ressource en eau potable (Daly & Wania, 2005; Gabrieli *et al.*, 2010 (a)). Ces régions fournissent notamment une quantité importante de la ressource en eau (Daly & Wania, 2005). Les systèmes karstiques, qui représentent parfois la totalité de la ressource en eau potable de certaines populations, sont particulièrement vulnérables (Schwarz *et al.*, 2011; Perrette *et al.*, 2013). Cependant, les facteurs et la dynamique de transfert des HAP de l'atmosphère aux aquifères ne sont pas encore bien appréhendés. Par ailleurs, les concentrations en HAP très élevées mesurées actuellement dans les sols, et supérieures aux émissions actuelles, peuvent également être dues à des productions passées. Perrette *et al.* (2008), par exemple, montrent que la période de charbonnage (entre 1700 et 1900 AD) a entraîné une production très importante de HAP, indiquant qu'une proportion des concentrations actuelles dans les sols est probablement due aux variations historiques des émissions. Cependant, si certaines études font état des variations en HAP sur les 300 dernières années (Gabrieli *et al.*, 2010 (b)), les variations des émissions de HAP à de plus longues échelles de temps sont encore peu connues.

3.3.1.3 Facteurs d'influence de la dynamique des HAP

Influence du couvert nival Une grande partie des précipitations en milieu de montagne s'effectue sous forme de neige. Les flocons sont des capteurs atmosphériques plus efficaces que les gouttes d'eau, d'une part du fait de leur porosité et de leur surface plus importantes (Carrera *et al.*, 2001), et d'autre part du fait du piégeage de particules lors de leur formation (Gabrieli *et al.*, 2010 (a)). Ils favorisent donc l'accumulation des HAP. Des dépôts secs importants peuvent également avoir lieu à la surface du couvert nival, influencés notamment par les faibles températures et les vents (Daly & Wania, 2005; Gabrieli *et al.*, 2010 (a)).

Après s'être déposés, les contaminants passent par différents processus de répartition et de transfert dans le manteau, et de volatilisation ou de drainage en période de fonte (Wania *et al.*, 1999, figure 3.15). Ces phénomènes entraînent une concentration de ces contaminants au sein du manteau neigeux (Bizzotto *et al.*, 2009; Bogdal *et al.*, 2009), généralement caractérisée par une prépondérance des HAP légers (Carrera *et al.*, 2001; Gabrieli *et al.*, 2010 (a); Perrette *et al.*, 2013). Dans l'étude de Gabrieli *et al.* (2010 (a)),

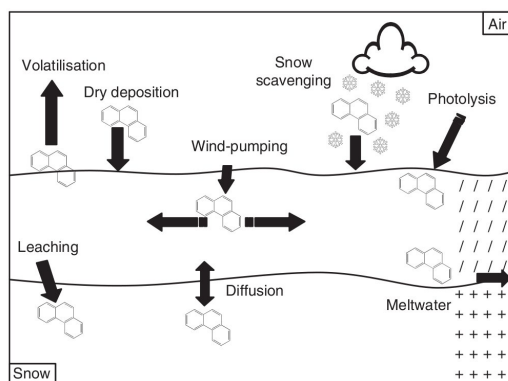


Figure 3.15 – Différents processus affectant les concentrations des contaminants persistants organiques dans le couvert nival (Herbert *et al.*, 2006)

le Naphtalène, Fluoranthène et Phénanthrène (HAP légers) représentent jusqu'à 60% de la totalité des HAP mesurés dans la couverture nivale.

Le processus de fonte influence fortement la période et la distribution des contaminants organiques transférés aux écosystèmes terrestres et aquatiques (Meyer *et al.*, 2006). En conditions expérimentales, Meyer *et al.* (2006) observent un relargage tardif des HAP liés aux particules en fin de période de fonte, en même temps que la majorité des particules piégées dans le manteau. Les HAP légers présents en phase dissoute sont quant à eux relargués presque uniformément pendant la fonte. Cependant, des processus de métamorphisme et les cycles de gel/dégel en conditions naturelles modifient la structure du couvert nival. Or ces changements ainsi que la perméabilité du couvert peuvent modifier la période de relargage. Ainsi Simmleit & Herrmann (1987) observent un pic de concentration des HAP particulaires en début de période de fonte certainement dû aux circulations interstitielles.

Enfin, les phénomènes de volatilisation sur le manteau neigeux sont généralement limités en hiver du fait des températures faibles mais peuvent augmenter au printemps, pendant la fonte (Daly & Wania, 2005). Le couvert nival représente donc un compartiment d'accumulation et de concentration des HAP en hiver, avant de relarguer les contaminants vers les sols et les aquifères durant la période de fonte, modifiant ainsi les distributions et la dynamique de transfert de ces derniers.

Influence de la végétation La végétation joue un rôle important dans les processus de dépôt et de volatilisation des HAP. Les organes végétaux, et en particulier les feuilles, captent ces contaminants par dépôt sec, dépôt humide ou par absorption des HAP en phase gazeuse. Les dépôts humides sont assez peu efficaces pour distribuer ces polluants à la végétation, contrairement aux sols. En hiver notamment, la chute des feuilles limite le piégeage de ces molécules par les plantes. Les dépôts secs en revanche sont plus efficaces, et

il a été montré qu'ils sont plus importants en milieu forestier qu'en milieu ouvert ([McLachlan & Horstmann, 1998](#)). Ils peuvent entraîner une concentration en HAP plus importante dans la canopée que dans les précipitations ([Wilcke, 2000](#)).

Le type de végétation peut également avoir un impact sur la capacité de piégeage des HAP et plusieurs études observent une plus grande concentration de HAP chez les résineux que chez les feuillus ([Matzner, 1984](#); [Van Brummelen *et al.*, 1996](#); [Wilcke, 2000](#)). La volatilisation en couvert forestier est également limitée puisque la capacité de rétention des milieux forestiers au couvert végétal dense est également supérieure à celle des végétations éparées ([Daly & Wania, 2005](#)). Ces polluants peuvent donc par la suite être transférés aux sols, soit par lessivage des dépôts secs, soit via la chute des feuilles ([Wilcke, 2000](#)). Les forêts, et principalement les forêts de conifères que l'on retrouve en altitude, induisent donc une amplification de la contamination ([McLachlan & Horstmann, 1998](#); [Perrette *et al.*, 2013](#)). [Belis *et al.* \(2009\)](#) trouvent ainsi une concentration dans les sols forestiers pour les 4 HAP qu'ils étudient, correspondant approximativement aux émissions des 15 précédentes années. Considérant que les forêts sont l'écosystème prépondérant dans les Alpes, avec approximativement 50% de la superficie sous couvert forestier, elles jouent donc un rôle majeur dans le cycle des polluants de cette région ([Belis *et al.*, 2009](#)).

Influence du type de sol Les HAP dans les sols ont tendance à l'accumulation du fait de leur stabilité élevée et de leur mobilité limitée résultant de leur faible solubilité dans l'eau ([Grimalt *et al.*, 2004](#)). Ainsi, une étude récente de [Quiroz *et al.* \(2011\)](#) a mesuré des concentrations entre 290 et 2300 ng/g de HAP dans les sols de plusieurs régions de montagne en Europe. Plusieurs facteurs pédologiques peuvent favoriser ou limiter l'accumulation ou le transfert depuis les sols, notamment le pH, la capacité d'échange cationique, l'humidité relative, et la matière organique ([Yang *et al.*, 2010](#)). Une large proportion des polluants organiques est en effet immobilisée dans les sols du fait d'une interaction importante avec la matière organique ([Yang *et al.*, 2010](#)). Cependant, une corrélation n'est pas toujours observée entre la quantité de matière organique et la concentration en HAP ([Quiroz *et al.*, 2011](#)). La qualité de la matière organique influence également les mécanismes de sorption des HAP, puisque les différentes fractions de cette dernière sont reconnues pour avoir une affinité très variable pour les HAP ([Doick *et al.*, 2005](#); [Pan *et al.*, 2007](#)). L'association des HAP avec la matière organique dissoute dépend de sa polarité, de sa configuration structurale ou encore de sa composition chimique ([Wilcke, 2000](#)). Ainsi, la fraction assimilée aux humines représente la fraction adsorbant préférentiellement ces polluants ([Tremolada *et al.*, 2012](#)). Les sols en général, et surtout la litière, présentent donc une concentration en HAP supérieure à celle des végétaux, principalement du fait d'un effet de "concentration" résultant du turnover plus rapide de la matière organique comparativement à celui des HAP ainsi que de l'accumulation du matériel végétal. Dans les sols non perturbés, la contamination est donc principalement concentrée à la surface du fait de la distribution de la matière organique ([Krauss *et al.*, 2000](#)). Les différences de matière organique en fonction du type de sol affectent donc l'accumulation et le transfert des HAP.

La composition minérale peut aussi influencer la rétention des HAP dans les sols, notamment lorsque le taux de matière organique est faible. La calcite dans les sols par exemple, semble contribuer à l'amplification de l'adsorption des HAP puisqu'il a été montré que les HAP ont une forte tendance à s'adsorber sur la calcite et que cette dernière peut contribuer à l'adsorption des HAP par complexation avec plus de substances humiques (Lu *et al.*, 2012).

Les paramètres climatiques affectent également la dynamique des HAP dans le sol, en particulier car ils sont responsables des modifications de la matière organique (Tremolada *et al.*, 2012). L'augmentation du pH entraîne la solubilisation des composés organiques dans les sols. Elle favorise donc le transfert des HAP, complexés à la matière organique dissoute, et limite ainsi l'adsorption des polluants dans les sols (Hippelein & McLachlan, 2000). La sorption des polluants organiques atmosphériques est également favorisée par la diminution de l'humidité relative des sols (Hippelein & McLachlan, 2000).

L'occupation des sols a également un impact important sur le type et la quantité de HAP stockés. Les sols forestiers sont généralement les sols qui accumulent le plus de HAP par comparaison avec les sols prairiaux et agricoles (ex. Aamot *et al.*, 1996; Krauss *et al.*, 2000; Tremolada *et al.*, 2008). Les pratiques agricoles influencent également les concentrations en HAP et leur persistance (Wilcke, 2000; Oleszczuk & Pranagal, 2007). Le labour par exemple entraîne une dilution des contaminants dans le sol alors que dans les prairies permanentes, on observe une plus forte accumulation en surface due à l'absence de dilution. L'épandage peut entraîner une concentration importante en HAP par l'application de résidus très concentrés en HAP, qui peut persister dans le temps (Wilcke, 2000).

Enfin, les pertes en HAP dans les sols sont peuvent être dues au ruissellement, mais également à des phénomènes de volatilisation influencés par différents facteurs comme l'humidité du sol ou le potentiel redox, et à un transfert vers la biosphère. Une partie des HAP est lessivée depuis les sols et transportée en fraction soluble. Ces pertes sont cependant limitées par rapport aux dépôts et à l'immobilisation de ces composés puisque plusieurs études montrent que les sols agissent comme des accumulateurs (ex. Belis *et al.*, 2009) et comme des filtres envers ces contaminants (Simmleit & Herrmann, 1987; Schwarz *et al.*, 2011; Perrette *et al.*, 2013).

Influence saisonnière En montagne dans les zones tempérées, l'hiver et le printemps sont marqués par une tendance à l'accumulation des HAP avec un échange préférentiel de l'atmosphère vers la végétation, les sols et les systèmes aquatiques (voir la figure 3.16 sur les processus saisonniers de volatilisation/dépôt des polluants organiques semi-volatiles en montagne de Daly & Wania, 2005). Cette accumulation est la résultante de températures plus froides, de l'augmentation des précipitations, du couvert nival et ensuite de la fonte de ce dernier. En plus de ces facteurs environnementaux, l'augmentation du chauffage résidentiel en hiver, associée à une faible dispersion des masses d'air à cette saison, cause une augmentation de la concentration en HAP atmosphériques durant cette période, et

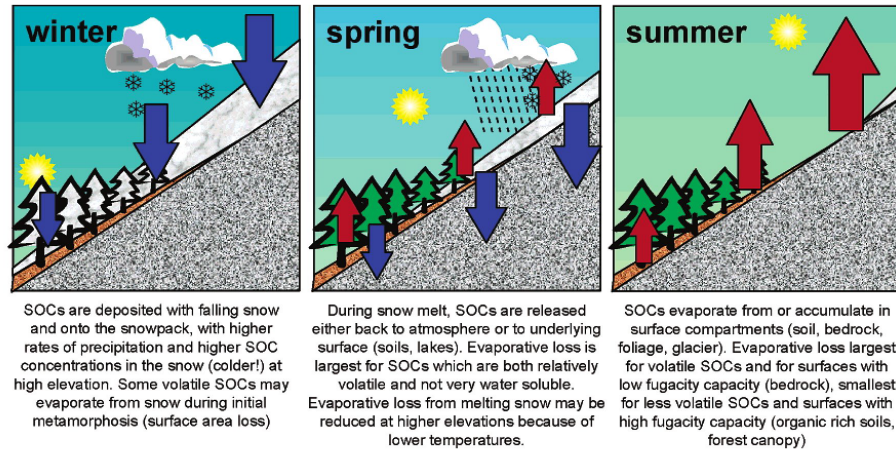


Figure 3.16 – Schéma des processus saisonniers influençant les échanges air-surface des contaminants organiques semi-volatiles en montagne (Daly & Wania, 2005). Les flèches bleues et rouges représentent respectivement les processus de dépôt et de volatilisation dont le bilan représente la tendance à l'accumulation ou au relargage des contaminants. Ces échanges sont à moduler en fonction des caractéristiques de volatilisation des composés.

renforce ainsi la tendance à l'accumulation de ces polluants (Motelay-Massei *et al.*, 2003; Marchand *et al.*, 2004). Dans les territoires touristiques urbanisés, l'augmentation des rejets des véhicules, et des activités anthropiques en général, a été démontrée.

La saison estivale est caractérisée par une concentration en polluants moins élevée du fait des températures plus élevées, de la diminution des précipitations et des émissions. Les processus de volatilisation sont également plus importants.

Ces différences saisonnières d'accumulation et de perte des HAP entraînent une différence saisonnière du transfert de ces polluants vers les systèmes karstiques. Ainsi, suivant la saison, les concentrations en HAP dans les eaux d'infiltration sont également très variables et peuvent passer de quelques ng/l jusqu'à plusieurs dizaines de g/l pour un même système (Schwarz *et al.*, 2011; Perrette *et al.*, 2013; Alam *et al.*, 2014; Shao *et al.*, 2014). Plusieurs études dans les Alpes observent une augmentation des concentrations durant la période hivernale et printannière (Schwarz *et al.*, 2011; Perrette *et al.*, 2013).

3.3.1.4 Les HAP en milieu karstique et dans les spéléothèmes

Les concentrations en HAP mesurées dans les eaux karstiques sont très variables selon les systèmes, les environnements de surface, le climat et les sources d'émissions. Elles atteignent par exemple 1699 ng/L en moyenne dans les eaux filtrées de la rivière souterraine de Laolongdong en Chine dans un bassin anthropisé (Alam *et al.*, 2014) contre seulement 65 ng/L dans les eaux d'écoulement de la grotte des Elaphes, dans les Préalpes françaises (Perrette *et al.*, 2013). La plupart de ces eaux montrent cependant une prépondérance

des HAP légers (2 à 3 cycles), au moins pour la phase dissoute ([Perrette et al. , 2013](#); [Alam et al. , 2014](#); [Shao et al. , 2014](#)). La phase particulaire quant à elle peut montrer une plus grande proportion d'HAP plus lourds ([Shao et al. , 2014](#)). [Schwarz et al. \(2011\)](#) dans leur étude d'un système karstique allemand observent cependant une majorité des HAP de poids moléculaire moyen à lourd qui sera discutée par la suite.

Les études admettent généralement une source atmosphérique pour les HAP retrouvés dans les eaux souterraines du fait de la similarité entre les signaux des dépôts atmosphériques et des eaux souterraines ([Schwarz et al. , 2011](#); [Perrette et al. , 2013](#)). De même, la plupart s'accordent sur le rôle important de filtre du sol. En effet, le signal en HAP de ce dernier montre une distribution différente, caractérisée par la proportion plus importante de HAP à haut poids moléculaires retrouvés dans les échantillons de sols par rapport aux échantillons d'eau de la plupart des systèmes étudiés ([Schwarz et al. , 2011](#); [Perrette et al. , 2013](#); [Alam et al. , 2014](#); [Shao et al. , 2014](#)). L'augmentation de cette fraction peut être causée par une dégradation, une revolatilisation des HAP les plus légers ou un changement de la source d'émission, et majoritairement par l'accumulation préférentielle des HAP à fort poids moléculaires, seuls les HAP plus légers étant remobilisés.

Pour beaucoup d'auteurs, le transfert des HAP du compartiment atmosphérique aux eaux souterraines est le fait d'un transport particulaire. Ainsi, l'enrichissement des eaux souterraines en HAP dans beaucoup de systèmes coïncide généralement avec une augmentation du débit et de la turbidité à la suite d'événements pluvieux ou de la fonte des neiges ([Simmleit & Herrmann, 1987](#); [Schwarz et al. , 2011](#); [Meus et al. , 2014](#)). La relation souvent positive avec la turbidité, a amené plusieurs auteurs à proposer le transport particulaire comme transport majoritaire dans ces milieux ([Simmleit & Herrmann, 1987](#); [Schwarz et al. , 2011](#); [Meus et al. , 2014](#); [Shao et al. , 2014](#)). [Schwarz et al. \(2011\)](#) montrent ainsi qu'en milieu rural, la plupart des HAP sont immobilisés dans les sols, et seule une partie est remobilisée via le transport particulaire. Ceci explique également la prépondérance des HAP moyens et lourds dans les eaux souterraines puisqu'ils sont généralement liés à des particules et ne se trouvent pas ou peu sous forme dissoute.

Cependant, en milieu naturel et stable, [Perrette et al. \(2013\)](#) observent que les contaminants semblent être principalement transférés avec les dépôts humides, remobilisant une petite proportion des dépôts secs. L'absence totale de HAP lourds dans les eaux souterraines suggère un rôle de filtre du sol et un transport particulaire limité. Cette différence s'explique par la dynamique des sols en surface. Dans l'étude de [Perrette et al. \(2013\)](#), le système étudié se développe sous un sol forestier organique stable alors que dans l'étude de [Schwarz et al. \(2011\)](#), les sols agricoles surmontant le système présentent une pression érosive importante, augmentant certainement le transport particulaire et diminuant le rôle de filtre du sol. Si la grande majorité des études s'accordent à montrer le rôle de filtre du sol, plus ou moins important, les modalités de transfert du signal restent encore à étudier.

Les environnements de montagne constituent des environnements où l'accumulation des polluants organiques volatiles, et notamment des HAP, est favorisée. Les conditions environnementales et climatiques caractéristiques des milieux d'altitude, renforcent les mécanismes de dépôt et le stockage de ces composés dans différents compartiments environnementaux. Ainsi, les forêts, le couvert nival et les sols des Alpes contiennent des concentrations importantes en HAP, souvent supérieures aux émissions. Si le sol joue un rôle de filtre pour ces contaminants, la forêt et le couvert nival ont une part prépondérante dans le processus de transfert, permettant leur redistribution vers le milieu aquatique. Ainsi, les aquifères karstiques de montagne sont particulièrement vulnérables à ces pollutions. Au regard du peu d'études réalisées sur ces systèmes, en particulier en milieu alpin, les modalités de transfert de ces polluants sont encore peu connues et nécessitent d'autres recherches. L'étude des HAP dans des spéléothèmes des Alpes vise donc plusieurs objectifs :

- obtenir une chronique des pollutions aux HAP au cours du temps afin d'évaluer les contaminations et leur évolution ;
- identifier les facteurs climatiques et anthropiques influençant le transfert de ces molécules pour comprendre la dynamique des proxies organiques ;
- intégrer les résultats au couplage multi-proxies pour identifier les variations environnementales durant l'Holocène.

3.3.2 Développement de la technique d'extraction et d'analyse des HAP

Les analyses de HAP ont été réalisées au laboratoire EDYTEM ainsi qu'au laboratoire LCME² de l'Université Savoie Mont-Blanc. Excepté les travaux de [Perrette et al. \(2008\)](#) sur une stalagmite du Vercors, il n'existe aucune étude publiée sur l'extraction et la mesure des HAP dans les spéléothèmes. L'étude de ces proxies a donc nécessité un développement méthodologique afin d'optimiser la méthode d'extraction de ces composés.

3.3.2.1 Protocole initial d'extraction des HAP

La méthode d'extraction initiale des HAP est basée sur celle développée par Alexandra Durand à partir de la méthode décrite dans [Perrette et al. \(2008\)](#) pendant son post-doctorat au laboratoire EDYTEM. Les composés recherchés et analysés avec cette méthode (tableau 3.5) correspondent aux 15 composés mesurés dans les travaux de [Perrette et al. \(2008\)](#) et classés prioritaires par l'agence de Protection de l'Environnement américaine (US-EPA). Comme ils sont présents à l'état de trace, des précautions particulières ont donc été prises afin de limiter les contaminations durant leur extraction. Toute la verrerie

2. Laboratoire Chime Moléculaire et Environnement, Université Savoie Mont-Blanc

Tableau 3.5 – HAP ciblés par la méthode d'extraction et d'analyse utilisée dans cette étude.

Composé	Abbréviation	Nbr de cycles	Formule
Naphtalène	N	2	C ₁₀ H ₈
Acénaphène	Ace	3	C ₁₂ H ₁₀
Fluorène	Flu	3	C ₁₃ H ₁₀
Phénanthrène	Phe	3	C ₁₃ H ₁₀
Anthracène	An	3	C ₁₄ H ₁₀
Fluoranthène	Fla	4	C ₁₆ H ₁₀
Pyrène	Pyr	4	C ₁₆ H ₁₀
Benzo (a)anthracène	BaA	4	C ₁₈ H ₁₂
Chrysène	CHR	4	C ₁₈ H ₁₂
Benzo (b)fluoranthène	BbF	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo (k)fluoranthène	BkF	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo (a)pyrène	BaP	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo (g,h,i)pérylène	BghiP	6	C ₂₀ H ₁₂
Dibenzo (a,h)anthracène	DBaA	5	C ₂₂ H ₁₄
Indéno (1,2,3,c,d)pyrène	IP	6	C ₂₂ H ₁₂

a été rincée au Gigapur pendant 1 à 2h, puis trempée dans un bain d'acide nitrique à 0,1% pendant 48h et rincée 3 fois à l'eau UHQ. Elle a également été rincée avec de l'acétone pour analyse avant utilisation. Des échantillons provenant d'une chute de **GC-09A** ainsi que de la calcite en poudre commerciale ont été utilisés pour les tests visant à développer le protocole.

Le protocole initial d'extraction comporte 3 étapes principales, présentées dans la figure 3.17 visant à extraire les différentes fractions, adsorbées sur les cristaux et piégées dans la matrice cristalline :

- *une extraction solide/liquide à partir de calcite broyée*

40 mL d'acétone sont ajoutés à la poudre de calcite et laissés à son contact sous ultrasons et réfrigérants pendant 10 minutes. La solution est ensuite centrifugée à 3500 tours/minute et le résidu est séparé du surnageant pour subir une nouvelle extraction. Cette opération est répétée avec 40 mL d'un mélange acétone/DCM (volume en rapport 1 :1), 40 mL de DCM, puis 40 mL de cyclohexane successivement. Le résidu final est conservé pour l'attaque acide. Tous les surnageants récupérés ont été rassemblés en un seul échantillon, qui est évaporé au rotavapeur jusqu'à ce qu'il ne reste environ que 2 mL de solution, alors récupérée dans un vial. Cet échantillon est ensuite stocké au frigo en attendant l'analyse en HPLC.

- *une attaque acide à l'HCl 3M*

20 mL d'eau et 20 mL de DCM sont ajoutés au résidu humide. Toujours sous réfrigérants et ultrasons, l'HCl 3M, préalablement nettoyé, est ensuite ajouté goutte à goutte, pour limiter la perte des HAP liée à l'effervescence de la réaction, jusqu'à dissolution complète de la calcite.

- *une extraction liquide/liquide au DCM*

Une extraction est réalisée à l'aide d'une ampoule à décanter en ajoutant 20 mL de DCM à la solution. Cette opération est répétée avec de nouveau 20 mL de DCM, ajoutés à la phase organique récupérée précédemment. La phase organique est ensuite évaporée au rotavapeur jusqu'à conserver 2 mL, puis récupérée dans un vial, avant d'être stockée au frigo.

3.3.2.2 Amélioration du protocole

Après de premiers tests, cette méthode d'extraction présente le désavantage d'être très sensible aux contaminations organiques et de nécessiter une quantité de matériel très importante (5 g). Pour améliorer la résolution temporelle des analyses tout en limitant les risques de contamination, la méthode d'extraction a subi plusieurs modifications au cours du temps qui sont résumées dans la figure 3.17. Les différentes évolutions du protocole sont discutées ci-dessous.

Suppression de l'étape 1 (extraction solide/liquide) La subdivision de l'extraction des HAP en deux étapes avait pour but d'évaluer la proportion de HAP adsorbée à la surface des cristaux (étape 1, fig. 3.17) et celle piégée dans la matrice cristalline (étape 2 et 3, fig. 3.17). L'étape d'extraction solide/liquide a cependant été abandonnée pour plusieurs raisons. Les premiers tests réalisés ont montré une importante contamination des échantillons, or les nombreuses phases d'extraction que comporte cette étape sont autant de sources de contaminations potentielles. De plus, le résidu humide résultant de l'extraction liquide/liquide voit également son risque de contamination augmenter.

Par ailleurs, [Wynn & Brocks \(2014\)](#) montrent que la probabilité d'adsorption de molécules organiques durant le stockage, la manipulation et la phase de préparation de l'échantillon est importante. Le risque de contamination de la fraction adsorbée sur et entre les cristaux pendant le stockage ou le broyage de l'échantillon avant analyse est important et amplifié par la faible concentration de cette fraction intercristalline. Si l'extraction solide/liquide permet donc d'obtenir la concentration en HAP superficiels et intercristallins séparément de ceux piégés dans les cristaux, le signal de cette fraction est comparativement très faible et contient potentiellement une proportion importante de molécules extérieures. Cette étape a donc été abandonnée au profit d'un signal total en HAP pour réduire le risque de contamination.

Modification de l'étape 2 (attaque acide) Les conditions acides sont connues pour avoir un impact important sur la matière organique avec notamment des phénomènes de floculation et de modification structurale des molécules. Pour vérifier que l'attaque acide n'a pas d'impact important sur les molécules de HAP analysées, des tests ont d'abord été réalisés en utilisant une solution standard contenant les HAP ciblés.

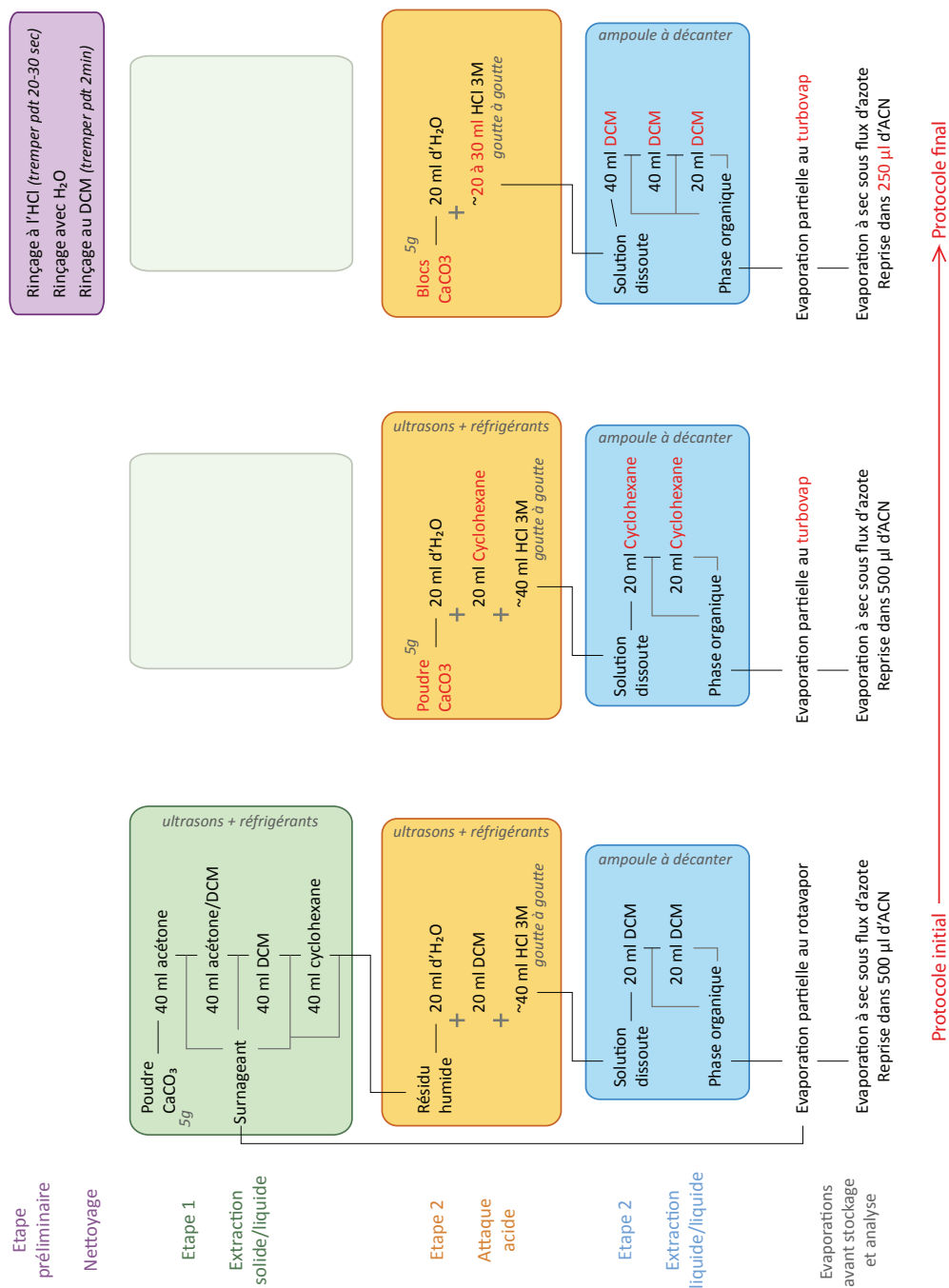


Figure 3.17 – Évolution des protocoles d'extraction des HAP des spéléothèmes. Les différentes étapes des protocoles au cours du temps sont présentées avec les modifications effectuées affichées en rouge.

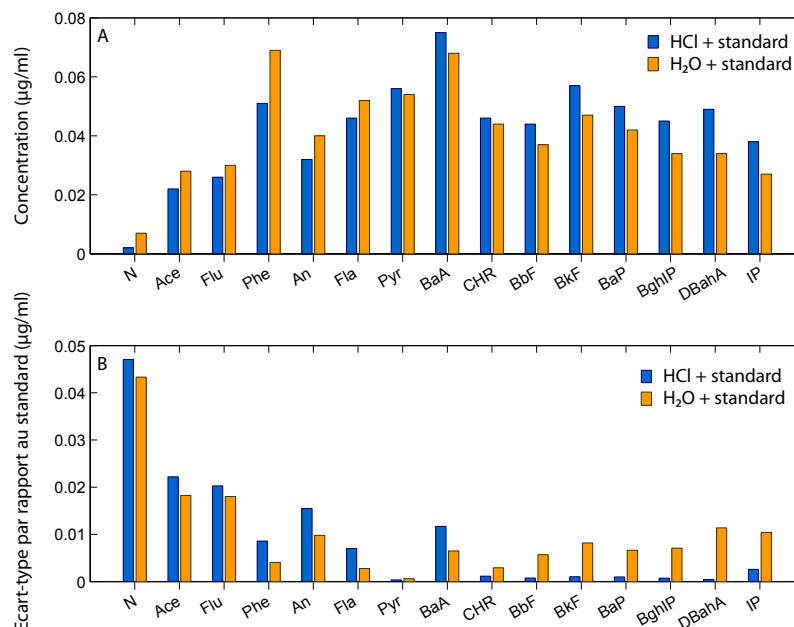


Figure 3.18 – Concentration en HAP (µg/mL) pour l'échantillon témoin d'acide et l'échantillon d'eau (A) et l'écart-type par rapport aux concentrations du standard (µg/mL, B).

Trois échantillons de 500 µL de standard ont été évaporés à sec sous flux d'azote puis repris dans 500 µL de méthanol. Dans deux des échantillons, respectivement 5 mL d'HCl 3M (quantité nécessaire pour dissoudre 0,5 mg de calcite) et 5 mL d'eau milliQ ont été ajoutés et laissés en contact pendant 5 min pour évaluer l'impact de l'acide. Ces deux échantillons ont ensuite subi une extraction liquide/liquide au DCM (+10 mL, 2 fois) avant d'être évaporés au turbovap et filtrés à 0.22 µm. Ils ont été évaporés à sec et repris dans 500 µL d'acétonitrile (ACN) avant analyse.

Les résultats (fig. 3.18, a) montrent une faible différence (0,028 µg/mL au total) entre les échantillons de standard dans l'eau et l'acide. Par ailleurs, une perte d'environ 15% est observée entre le standard et les échantillons avec l'eau et l'acide (fig 3.18, b). Cette perte concerne principalement les HAP à faible poids moléculaire, pour lesquels l'écart est légèrement plus important dans le cas de l'acide. Le rendement sur les molécules à haut poids moléculaire est meilleur dans le cas de l'échantillon contenant de l'acide. L'impact de l'acide sur l'échantillon peut être considéré comme négligeable par rapport au rendement obtenu avec de l'eau. La perte en HAP légers est certainement due aux différentes étapes du protocole, plutôt qu'à l'effet de l'acide puisqu'elle est observable également dans l'échantillon d'eau. Ces molécules sont très volatiles ce qui explique la proportion importante de perte lors des expériences. L'acide chlorhydrique peut donc être utilisé sans impact particulier lié à l'acidification de l'échantillon.

À la suite de la suppression de l'étape 1, l'attaque acide est réalisée directement sur la calcite, réduit en poudre. L'utilisation des réfrigérants et du bain à ultrasons a été progressivement abandonnée au fur et à mesure des tests réalisés (fig. 3.17). Le dispositif de refroidissement, initialement pensé dans le but de limiter la volatilisation des HAP liée à l'échauffement (Lüers & ten Hulscher, 1996; Banjoo & N., 2005) lors de l'attaque acide, représentait une source de contamination. Par ailleurs, les différents tests réalisés ont montré que l'échauffement était très limité. Ce dispositif a donc été supprimé.

Le bain à ultrasons, utilisé pour permettre un mélange homogène de l'échantillon afin de mieux dissoudre la calcite, a été remplacé par un agitateur magnétique afin de simplifier la procédure. Enfin, une dernière évolution du protocole a remplacé la poudre de calcite par les blocs de calcite. Les échantillons sont ainsi dissous directement sans passer par une étape de broyage, qui pourrait augmenter le risque de contamination. Cette modification a également permis de mettre en place une procédure de nettoyage des échantillons avant analyse, toujours dans le but de réduire les risques de contamination. Ainsi, avant extraction les blocs de calcite sont trempés dans un bain d'HCl afin de supprimer 1 à 2 mm de calcite pour limiter la proportion de polluants d'origine exogène dans les échantillons (Blyth *et al.*, 2006; Blyth & Watson, 2009; Blyth *et al.*, 2013; Wynn & Brocks, 2014). Ils sont ensuite rincés à l'eau milliQ pour retirer l'acide, puis au DCM pour limiter tout reste de contamination. L'attaque acide est donc ensuite réalisée directement dans un becher en ajoutant l'HCl 3M goutte à goutte à l'aide d'une burette, toujours pour limiter la perte des HAP liée à l'effervescence de la réaction.

Optimisation de l'étape 3 (extraction liquide/liquide) Pour l'extraction liquide/liquide, le solvant initialement utilisé était le cyclohexane (Fanget *et al.*, 2002; Perrette *et al.*, 2013). L'intérêt de ce solvant était de créer une barrière due à sa faible densité pour limiter les pertes liées à l'effervescence produite par l'attaque acide. Cependant, lors des différents tests réalisés, la présence d'eau dans les échantillons après l'extraction liquide/liquide a été observée. Celle-ci n'a pu être retirée avec un traitement au Na_2SO_4 qui complexe habituellement avec l'eau, certainement du fait de la présence du chlore en grande quantités dans la solution. Pour éviter ce problème, l'utilisation du DCM en remplacement du cyclohexane a été envisagée. Même si ce solvant ne permet plus d'avoir un effet de barrière, sa densité, plus importante que celle de l'eau, permet d'éviter la présence d'eau dans l'échantillon lors de la récupération de la phase organique de l'extraction liquide/liquide. Les tests réalisés montrent que la capacité d'extraction de ce solvant est similaire, voire supérieure au cyclohexane ce qui va dans le sens de plusieurs travaux (Domeno *et al.*, 2006). C'est par ailleurs un solvant utilisé dans plusieurs études pour extraire les composés organiques des spéléothèmes (ex. Blyth *et al.*, 2006). Le DCM sera donc préférentiellement utilisé par la suite.

Contamination Il est important de noter que de nombreux problèmes de contaminations ont été rencontrés au cours du développement de ce protocole, et ce malgré l'attention particulière apportée au risque de contamination. Les premiers blancs réalisés présentaient une

contamination importante puisque les résultats d'analyse ont montré une saturation principalement dans la gamme des HAP légers alors qu'ils contenaient uniquement des solvants. La présence d'un grand nombre d'autres composés fluorescents a également été notée. Wynn & Brocks (2014) ont montré que des contaminants organiques volatiles pouvaient pénétrer et diffuser à l'intérieur d'échantillons et pourraient donc se retrouver également dans les blancs. Par ailleurs, ces auteurs ont également souligné que certains contaminants organiques peuvent être apportés par les solvants et/ou générés par les réactions chimiques effectuées, comme l'attaque acide. Ces contaminations restent présentes malgré d'autres tests après plusieurs nettoyage successifs de la verrerie et le changement des solvants. Ces tests suggèrent une pollution atmosphérique au niveau du laboratoire et les analyses suivantes ont été réalisées au laboratoire LCME, ce qui a permis d'améliorer le signal des blancs.

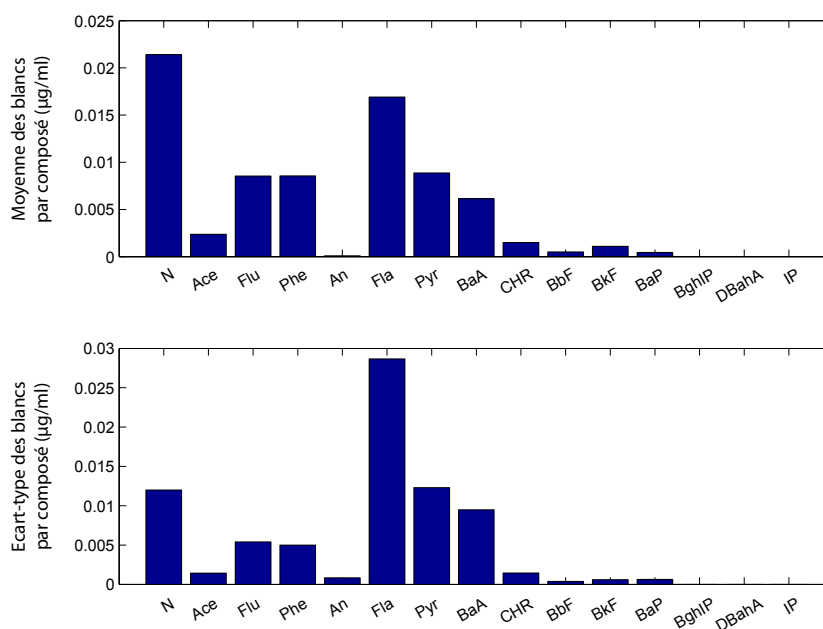


Figure 3.19 – Concentration moyenne et écart-type en HAP ($\mu\text{g/mL}$ par composé) des échantillons de blancs (5 échantillons) réalisés selon le protocole final. Les composés BghiP à IP sont non détectés ou détectés dans un seul échantillon.

La figure 3.19 présente les concentrations moyennes des 15 HAP des blancs réalisés au LCME selon le dernier protocole. Tous les HAP sont détectés et les composés N, Flu, Phe, Fla et Pyr présentent des concentrations moyennes supérieures à $0,005 \mu\text{g/mL}$ (jusqu'à $0,021 \mu\text{g/mL}$ en moyenne pour le naphthalène). Les composés les plus lourds sont ceux que l'on retrouve en moins grande concentrations. Ceci est probablement dû au fait que la source de ces contaminations est certainement atmosphérique et que les composés plus

volatiles (plus légers) sont donc plus représentés. Par ailleurs, les solvants et l'acide utilisés peuvent également être une source de contamination non négligeable.

Le protocole final a été simplifié en supprimant les procédures de refroidissement, les ultrasons et le broyage de la calcite au profit d'une étape de "nettoyage des échantillons" directement sur les blocs de calcite (étape préliminaire figure 3.17). Il consiste donc en seulement deux étapes principales puisque l'extraction solide/liquide a également été supprimée pour limiter les contaminations :

- **une attaque acide à l'HCl 3M**

Pour 5 g de calcite, l'attaque acide est donc réalisée avec 20 mL d'eau milliQ et environ 40 mL d'HCl 3M, ajouté goutte à goutte à la burette jusqu'à dissolution complète de la calcite.

- **une extraction liquide/liquide au DCM (2 x 40mL et 1 x 20 mL).**

Après extraction, la phase organique est passée au turbovap sous azote à 40°C et filtrée à 0.22 µm dans une seringue en verre avant d'être stockée au frigo.

3.3.2.3 Analyse

Avant analyse, la solution est évaporée à sec sous flux d'azote. L'échantillon est ensuite repris dans 250 µL d'acétonitrile dont 100 µL seront placés dans un vial pour analyse. Les analyses se font en HPLC (High Performance Liquid Chromatography) sur une chaîne Merck se composant de :

- un passeur automatique Merck AS-2000 A Autosampler
- une colonne C₁₈ Nucleosil 100-5 C₁₈ PAH de 25 cm ; 4,6 mm de diamètre ; 5 µm (ref. 720117.46)
- un four Eppendorf CH-500 ($T_{col} = 30^{\circ}\text{C}$)
- une pompe pour phase mobile Merck L-6200A Intelligent Pump
- une interface Merck D-6000 Interface
- un dégazeur à membrane Gantorr BG-14
- PE Nelson 200 Series Interface

Tableau 3.6 – Gamme d'étalonnage utilisée en HPLC pour l'analyse des HAP.

Nom du standard	Concentration (μg chq HAP par mL d'ACN)
SM2000	0,050
SM4000	0,025
SM5000	0,020
SM10000	0,010
SM50000	0,002
SM100000	0,001

Les échantillons sont prélevés par le passeur automatique et injectés avec un gradient d'élution binaire méthanol/eau dans l'HPLC, plus sensible que la GC-MS (chromatographie en phase gazeuse), où la séparation des composés est réalisée à l'aide d'une colonne de type phase inverse C_{18} (voir plus haut). Une fois séparés, les composés sont détectés en sortie de colonne grâce à un détecteur de fluorescence. L'étalonnage est réalisé régulièrement à l'aide de solutions standards, comme décrit dans le tableau 3.6. Des échantillons de standards sont également intercalés dans les séries d'échantillons afin de vérifier la stabilité de l'appareil.

3.3.3 Résultats méthodologiques

Le protocole développé plus haut permet d'obtenir des concentrations en HAP contenus dans 5 g de calcite. Pour obtenir un signal haute-résolution et pouvoir déterminer une chronique de pollution pendant l'Holocène, la masse des échantillons utilisée doit être réduite. Pour cela, plusieurs tests ont été mis en place afin :

- d'évaluer la qualité de la méthode en mesurant les rendements ;
- de déterminer la reproductibilité des mesures en effectuant des répliquats sur des échantillons de calcite broyée ;
- de diminuer la concentration de masse de calcite utilisée.

Ces tests ont été réalisés au LCME par Marion Carteret.

3.3.3.1 Qualité de la méthode

Des tests de rendements ont été réalisés selon le même protocole pour les échantillons de calcite, en dopant 20 mL d'eau milliQ avec 10 μL de solution standard SM20 (5 g de chaque HAP par mL d'ACN) pour *Rdt1* et avec 50 μL de solution standard SM4000 (0,025 μg de chaque HAP par mL d'ACN) pour *Rdt2* à *Rdt6*. Les résultats de ces rendements sont présentés dans le tableau 3.7. Pour les échantillons *Rdt2* à *Rdt6*, le rendement moyen par HAP est de 99 % et varie entre 188 et 51% (respectivement pour le Naphtalène et l'Acénaphthène). Les coefficients de variation de ces rendements moyens sont inférieurs

Tableau 3.7 – Résultats des différents rendements effectués à l'aide d'une solution standard SM20 (5 µg/mL par HAP, pour *Rdt1*) et SM4000 (0,025 µg/mL par HAP, pour *Rdt2* à *Rdt6*) pour l'extraction et l'analyse des HAP. La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation (CV) sont calculés sur les *Rdt2* à *Rdt6* qui présentent les mêmes concentrations.

Nom échant.	masse (g)	N	Ace	Flu	Phe	An	Fla	Pyr	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	BghiP	DBahA	IP
Rdt 1 (%)	0,05 µg	8,3	18,3	32,9	31,6	39,1	59,2	48,7	72,4	76,4	83,2	53,1	80,0	87,4	95,9	66,0
Rdt 2 (%)	1,25 ng	100,8	41,2	83,0	111,3	63,8	93,6	92,7	94,8	103,8	96,7	100,7	92,4	105,0	97,9	51,4
Rdt 3 (%)	1,25 ng	158,8	46,1	105,1	92,1	59,4	89,7	91,7	125,8	114,1	107,5	113,9	22,1	108,4	101,4	61,3
Rdt 4 (%)	1,25 ng	178,8	52,7	115,2	119,0	62,4	89,2	89,8	134,3	106,4	107,3	102,3	93,7	111,4	103,9	71,1
Rdt 5 (%)	1,25 ng	257,1	59,6	61,8	129,1	69,3	96,0	96,7	120,8	104,8	111,4	111,2	93,8	107,2	98,8	88,1
Rdt 6 (%)	1,25 ng	243,2	56,6	99,2	109,0	61,7	85,6	87,9	118,2	107,3	95,0	113,3	92,0	109,3	99,7	88,7
Moyenne		188	51	93	112	63	91	92	119	107	104	108	79	108	100	72
Ecart-type		64	8	21	14	4	4	3	15	4	7	6	32	2	2	16
CV (%)		34,1	14,7	22,5	12,2	5,9	4,5	3,6	12,4	3,8	7,0	5,8	40,2	2,2	2,4	22,8

à 12,4% excepté les HAP légers N, Ace, Flu, (respectivement 34, 15 et 23 %) et les HAP lourds BaP et IP (respectivement 40 et 23%). Ceci signifie que le rendement est plus variable pour ces composés, et que leurs concentrations mesurées en HAP sont donc à prendre avec précaution. Les rendements obtenus avec ce protocole sont donc bons puisqu'ils approchent de 100% et seuls certains composés, comme N, Flu, BaP ou IP par exemple, sont à regarder avec un peu plus d'attention du fait de la variation plus importante de leur rendement.

3.3.3.2 Reproductibilité de l'extraction

Pour évaluer si les mesures effectuées sont répétables, une poudre de calcite homogénéisée a été divisée en plusieurs échantillons de 1 et de 2 g pour répliquer l'étape d'extraction et d'analyse (tab. 3.8). La calcite a préalablement été nettoyée selon l'étape 1 du protocole (figure 3.17) avant d'être broyée dans un mortier en agathe pour limiter les contaminations.

Les résultats obtenus (tab. 3.9) sont caractérisés par une distribution des molécules présentant une dominance des HAP légers. Les composés lourds (de BaP à IP) sont absents ou non détectables. La sorption préférentielle de ces composés dans les sols peut expliquer leur absence dans les spéléothèmes. Ces résultats sont également observés dans l'étude de [Perrette et al. \(2008\)](#) qui ne détectent aucun composé avec plus de 4 cycles. Lorsque l'on soustrait le signal des blancs, on observe que le signal en HAP des échantillons n'est pas significatif (tab 3.9). Ceci est également le cas pour les tests réalisés sur la calcite en blocs pourtant nettoyée et non broyée pour limiter les contaminations. Cependant, les faibles masses de calcite utilisées afin d'augmenter la résolution des analyses ne permettent pas d'obtenir une concentration en HAP suffisante pour négliger le signal du blanc.

Tableau 3.8 – Différentes masses d'échantillons de calcite broyée et en morceaux utilisées pour l'optimisation du protocole d'extraction des HAP.

Type d'analyse	Calcite en morceaux	Calcite broyée
Echantillon de 1 g	Ech 1, Ech 2, Ech 3	CB6, CB7, CB8, CB9, CB11
Echantillon de 1,5 g	Ech 4	-
Echantillon de 2 g	Ech 5, Ech 6	CB2, CB4, CB5, CB10
Echantillon de 2,5 g	Ech 7	-

Tableau 3.9 – Résultats des concentrations (ng/g de calcite) dans les échantillons de calcite broyée (CB) et en morceaux (Ech) pour chaque HAP, après soustraction de la concentration moyenne des blancs.

Nom échant.	Masse (g)	Concentration après soustraction de la moyenne des blancs (ng/g de calcite)														
		N	Ace	Flu	Phe	An	Fla	Pyr	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	BghiP	DBahA	IP
Ech 1	0,8	60,23	4,51	8,49	-0,39	-0,26	-4,65	-2,01	-1,56	-0,11	0,25	-0,25	-0,12	0,12	-0,13	-0,20
Ech 2	1,13	45,18	-0,32	-0,23	-0,17	-0,18	-3,29	-1,50	-1,19	-0,27	-0,06	-0,05				
Ech 3	1,22	21,04	1,07	-1,04	-0,43	-0,16	-2,81	-1,16	-1,01	-0,18	0,13	-0,11				
Ech 4	1,509	3,17	8,08	9,08	-0,54	-0,16	-2,51	-0,96	-0,95	-0,20	0,16	0,00	-0,03			-0,14
Ech 5	2,051	-0,36	1,25	2,94	0,27	-0,10	-1,88	-0,80	-0,72	-0,15	-0,05	-0,06				
Ech 6	1,931	-1,05	0,45	0,54	0,40	-0,10	-1,94	0,01	-0,68	-0,15	0,10	-0,06	0,26			0,04
Ech 7	2,512	-1,48	0,67	0,12	-0,45	0,06	-1,51	-0,62	-0,46	0,00	0,03	0,02				0,11
CB2	2	0,59	-0,24		-0,05	0,04	-1,90	-0,86	-0,74	-0,16	-0,11	-0,09				
CB4	2	0,91	-0,14	-0,58	-0,01	0,04	-1,89	-0,89	-0,63	-0,17	0,04	-0,06				
CB5	2,105	0,48	-0,12	-0,71	0,37	0,04	-1,75	-0,79	-0,39	-0,14		-0,09				
CB10	2,016	-2,12	-0,20	-0,89	-0,08	0,03	-1,96	-0,79	-0,66		-0,06	-0,10				
CB6	1,067	2,76	-0,17	-1,28	0,66	0,08	-3,41	-1,60	-1,39	-0,29		-0,15				
CB7	1	-2,44	-0,37	-1,68	0,70	0,08	-3,71	-1,50	-0,99	-0,02		0,21				
CB8	1,001	-0,46	-0,21	-1,53	0,91	0,10	-3,27	-1,45	-1,14	-0,23		-0,08				
CB9	1,018	0,84	-0,29	-1,51	0,46	0,07	-3,67	-1,47	-1,28	-0,30		-0,20				

Résumé :

- problèmes de pollution importants au vu des faibles concentrations présentes dans les spéléothèmes
- optimisation du protocole d'extraction des HAP pour limiter les risques de contamination
- essai de réduction de la quantité de matériel utilisé pour améliorer la résolution temporelle des analyses
- résultats : rendements importants mais problème de contamination toujours présent

La méthode n'est donc à ce jour pas applicable sur des échantillons de moins de 5 g de ce spéléothème. La résolution permise est donc trop basse pour réaliser une chronique de pollution précise et comparer ce signal à celui des autres proxies. Cependant, cette méthode pourrait être applicable sur des spéléothèmes contenant de très fortes concentrations en matière organique, sur des sites fortement impactés par une production de HAP ou sur des spéléothèmes avec un fort taux de croissance. Elle peut également être utilisée dans le cas où un signal très résolu n'est pas nécessaire. Pour pouvoir utiliser cette technique à haute résolution, des mesures visant à réduire les contaminations devraient être mises en place. Une modification de la méthode d'extraction ou de la technique de mesure pourraient également être envisagées.

3.4 Les lipides, proxies des relations sol-végétation

3.4.1 État de l'art

Les lipides sont des chaînes carbonées constituant les organismes vivants. Ils se retrouvent dans tous les environnements mais peuvent être associés à des sources biologiques spécifiques. Ainsi certains composés lipidiques sont des marqueurs des plantes supérieures, des champignons ou d'une activité bactérienne. De plus, ces composés peuvent être préservés durant des milliers d'années. Une étude a montré que le signal lipidique d'une stalagmite moderne active et celui d'échantillons vieux de 100 000 ans de la même région étaient sensiblement les mêmes, montrant ainsi qu'il y avait peu de perte du matériel piégé ([Rousseau et al. , 1995](#)).

Ces propriétés en font des proxies intéressants pour les études paléoenvironnementales. Ils permettent entre autres d'évaluer la contribution des différentes sources biologiques identifiables en mesurant les quantités relatives et les distributions des composés lipidiques ([Blyth et al. , 2008](#)). Cette utilisation des lipides s'est développée notamment en environnement marin (sédiments) et terrestres (sédiments lacustres, sols, tourbières), pour caractériser les changements de végétation et du climat ([Blyth et al. , 2008](#), et les références citées). Depuis une dizaine d'années, l'utilisation des spéléothèmes comme enregistreur de l'évolution du signal lipidique s'est beaucoup développée.

3.4.1.1 Les lipides des spéléothèmes

Les composés lipidiques sont présents à l'état de trace dans les spéléothèmes. [Rushdi et al. \(2011\)](#) mesurent, par exemple, une concentration totale en lipides entre 0,5 et 1,9 µg/g de calcite le long du spéléothème étudié. Les études réalisées sur les lipides des spéléothèmes extraient une diversité de composés importante, variant selon les échantillons. Les plus représentés sont :

- les alcanes ;
- les acides gras (acides alcanoïques, 3-hydroxy-acides) ;
- les alcools (alcanols, alcan-2-ones) ;
- les stérols.

Les lipides préservés dans les spéléothèmes proviennent principalement des sols et de la végétation de surface via les eaux d'écoulement. Les lipides des sols représentent 4 à 8% de la matière organique et proviennent principalement des plantes et des microorganismes. C'est une fraction relativement stable qui contient de nombreux biomarqueurs indiquant l'apport de différents constituants des végétaux aux sols et leur transformation ([Rethemeyer et al. , 2004](#)). Dans leurs travaux sur l'étude des acides gras dans les eaux d'écoulement de

la grotte de Heshang en Chine, les résultats de [Li et al. \(2011\)](#) valident l'origine pédologique de ces proxies.

Une proportion de ces composés peut toutefois être produite par les communautés microbiennes de l'écosystème souterrain ([Xie et al. , 2003, 2005](#); [Blyth et al. , 2008](#); [Yang et al. , 2011](#); [Blyth et al. , 2014](#)). [Blyth & Schouten \(2013\)](#) observent ainsi une prédominance des lipides produits *in situ* par rapport aux lipides provenant des sols.

L'utilisation de ces composés fait intervenir leur occurrence, leur distribution (notamment les ratios LMW/HMW³), et leur conformation moléculaire (prédominance et distribution des chaînes paires ou impaires et/ou du degré de saturation ou de ramification des molécules). Par exemple, la distribution des HMW alcanes, alcanols et acides alcanoïques sont des marqueurs de la contribution des végétaux ([Blyth et al. , 2011](#), et les références citées) et certains stérols, comme le stigmastérol ou le β -sitostérol sont des marqueurs spécifiques des plantes supérieures. Les alcools ramifiés, les LMW alcools, alcanes et acides alcanoïques et les acides alcanoïques insaturés indiquent une source microbienne générale alors que les acides alcanoïques ramifiés et les 3-hydroxy acides sont des marqueurs d'une contribution bactérienne spécifique ([Blyth et al. , 2011](#), et les références citées). [Blyth et al. \(2007\)](#) observent par ailleurs que ces proxies semblent présenter une réponse quasi-immédiate aux changements environnementaux au contraire du carbone des spéléothèmes dont le délai de turnover dans le sol a été évalué à 90 ans.

Plusieurs indices ont ainsi été développés et sont présentés dans le tableau 3.10 (liste non exhaustive). Il est important de noter que l'utilisation de ces traceurs suppose un transport non sélectif des différents composés lipidiques. Ces indices permettent de retracer les changements passés de l'environnement et du climat. Le ratio C_{27}/C_{31} des alcanes par exemple a été décrit comme un marqueur de la végétation arborée versus une végétation herbacée ([Marseille et al. , 1999](#)). En effet, le C_{27} est un alcane dominant dans la végétation arborée alors que le C_{31} est un composé typique de la cire des feuilles d'une végétation herbacée. [Blyth et al. \(2007\)](#) utilisent ainsi ce ratio comme marqueur de la végétation et observent un signal qui coïncide avec les changements d'écosystèmes connus des 100 dernières années en Ethiopie. La variation des valeurs du ratio au cours du temps dans la stalagmite coïncide ici parfaitement avec le passage d'un écosystème forestier à un système agricole (fig. 3.20). Ce ratio a été appliqué sur différents environnements (Chine, Ethiopie, Ecosse) avec de bons résultats et semble être un indicateur robuste ([Blyth et al. , 2011](#)).

3. Ratio des composés à faible poids moléculaire sur les composés à fort poids moléculaire. LMW = Low Molecular Weight ; HMW = High Molecular Weight.

Tableau 3.10 – Tableau de différents indices basés sur l'analyse des lipides dans les spéléothèmes et l'information paléoenvironnementale associée. LMW = Low Molecular Weight ; HMW = High Molecular Weight ; CPI = Carbon Preference Index ; MBT et CBT = respectivement indices du degré de méthylation et de cyclicité des tétraéthers ramifiés.

Indice	Information	Références
LMW/HMW alcanols	origine végétale versus microbienne, indicateur de la température	Xie <i>et al.</i> (2003, 2005); Blyth <i>et al.</i> (2011)
Acides gras insaturés/saturés	Processus microbiens indicateurs de la température	Xie <i>et al.</i> (2005); Blyth <i>et al.</i> (2011)
LMW/HMW alcanes	origine végétale/microbienne	Xie <i>et al.</i> (2003); Blyth <i>et al.</i> (2011)
CPI (prédominance des chaînes paires ou impaires) et distribution des HMW alcanes, alcools, acides gras	type de végétation	Xie <i>et al.</i> (2003, 2005); Blyth <i>et al.</i> (2007); Rushdi <i>et al.</i> (2011)
C ₂₇ /C ₃₁ des alcanes	Végétation herbacée vs arborée	Blyth <i>et al.</i> (2007, 2011)
TEX ₈₆ , MBT/CBT	Température	Yang <i>et al.</i> (2011); Blyth & Schouten (2013); Blyth <i>et al.</i> (2014)

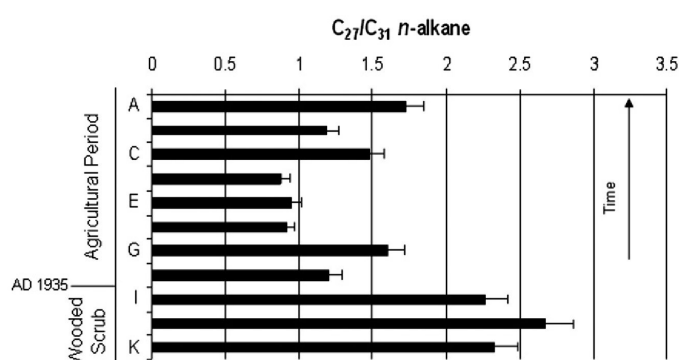


Figure 3.20 – Évolution du ratio C₂₇/C₃₁ dans le temps. Une décroissance du ratio à partir de 1935 A.D. marque le passage d'un écosystème forestier à une utilisation agricole du site (Blyth *et al.*, 2007).

D'autres études ont utilisé les GDGT (Glycerol Dialkyl Glycerol Tetraether) comme marqueurs des conditions climatiques, et plus particulièrement de la température (Yang *et al.* , 2011; Blyth & Schouten, 2013; Blyth *et al.* , 2014). Ce sont des constituants des membranes microbiennes dont la structure varie en fonction de la température et du pH. Deux principaux groupes ont été identifiés :

- les GDGT provenant des *Archaea* qui présentent une structure ayant une corrélation positive avec la température (Schouten *et al.* , 2002; Wuchter *et al.* , 2004) ;
- les GDGT ramifiés, principalement dérivés des bactéries, dont la structure est influencée par la température et le pH (Weijers *et al.* , 2007).

À partir des propriétés de ces deux groupes, deux types d'indices ont été créés et sont utilisés dans les spéléothèmes :

- le TEX₈₆ et le TEX'₈₆ basés sur la distribution relative de différents GDGT provenant d'un phylum d'*Archaea* ;
- le MBT (index de méthylation des tétraéthers ramifiés ou *methylation index of branched tetraether* en anglais), reflétant le pH du sol et la température moyenne annuelle, et le CBT (ratio de cyclisation des tétraéthers ramifiés ou *cyclisation ratio of branched tetraether* en anglais), reflétant le pH du sol, sont basés sur la distribution des différents GDGT ramifiés.

Les indices TEX ou le rapport MBT/CBT peuvent être utilisés pour calculer les températures. Yang *et al.* (2011) ont en premier reporté la présence de GDGT dans les spéléothèmes. Ces derniers, ainsi que Blyth & Schouten (2013), notent une corrélation significative entre l'indice TEX₈₆ et le climat. Blyth & Schouten (2013) observent également une corrélation avec le proxy MBT/CBT. L'utilisation de ces proxys est cependant encore à évaluer puisque ces corrélations ne sont pas toujours observées, soit du fait de l'influence d'autres facteurs sur ces proxys, soit à cause de la proportion importante, voire majoritaire de la production de ces lipides au sein du système (Yang *et al.* , 2011; Blyth *et al.* , 2014).

3.4.1.2 Limites des méthodes et applications

Les lipides semblent donc présenter un fort potentiel en tant que proxy du paléoenvironnement et du paléoclimat. Cependant, les différences de fonctionnement notées entre certains indicateurs suivant les sites étudiés laissent penser que plusieurs facteurs encore mal identifiés, complexifient la lecture du signal lipidique.

Transfert des lipides Il existe actuellement très peu d'études concernant le transfert des lipides depuis les sols vers les spéléothèmes. L'hypothèse proposée est celle d'un transport par lessivage, en phase particulaire et/ou dissoute, qui semble validée par l'étude de Li *et al.* (2011). Cependant, les lipides, ou une fraction lipidique, ne sont pas toujours retrouvés dans les spéléothèmes. Blyth *et al.* (2010) ne retrouvent par exemple que très peu de composés

lipidiques dans la stalagmite de Nullarbor qu'ils étudient. La plupart de leurs échantillons présentent une concentration inférieure aux limites de détection et seul un échantillon contient quelques acides gras, des acides hydroxiques et quelques alcools. Les alcanes et les stérols, molécules apolaires présentes dans d'autres spéléothèmes, ne sont quant à eux pas observés. [Rushdi et al. \(2011\)](#) font également la même constatation et expliquent cette absence par l'insolubilité de ces molécules, associant les fortes concentrations retrouvées dans les précédentes études à des dépôts atmosphériques sur les spéléothèmes.

Les molécules plus lourdes et plus hydrophobes seraient préférentiellement adsorbées sur les particules. [Quenea et al. \(2004\)](#) observent ainsi une prédominance des longues chaînes d'alcanes, d'acides gras et d'alcools dans la fraction particulaire fine d'un sol forestier. Les phases dissoutes et particulaires des eaux d'écoulement analysées par [Li et al. \(2011\)](#) présentent de légères différences dans la quantité des composés et le pourcentage des longues chaînes d'acides gras. Étant donné la forte hydrophobicité de ces molécules, il est également probable qu'un lessivage préférentiel ait lieu, augmentant ainsi la proportion des molécules à faible poids moléculaire dans la phase dissoute. L'absence de composés apolaires ainsi que de produits de dégradation et d'oxydation amène [Rushdi et al. \(2011\)](#) à valider l'hypothèse d'un transport des lipides par lessivage depuis les sols pour leur spéléothème. Comme pour les HAP, le sol pourrait donc jouer un rôle de filtre pour une partie des composés lipidiques.

Signal in-situ Les relations entre les ratios de composés lipidiques et les conditions climatiques ou environnementales ne sont pas évidentes dans toutes les études, malgré les résultats prometteurs obtenus sur certains spéléothèmes ([Blyth et al. , 2011](#)). La contribution bactérienne en particulier présente potentiellement 2 sources, à savoir les sols et les communautés microbiennes du système karstique (épikarst, zone vadose, eau d'alimentation des spéléothèmes), compliquant l'interprétation du signal. La présence de composés légers, généralement associés à une contribution bactérienne est donc difficile à interpréter. Dans leur étude sur les eaux d'écoulement, [Li et al. \(2011\)](#) observent un signal très proche de celui du sol suggérant une importante contribution de celui-ci. Cependant, ils associent les fortes concentrations et proportions d'acide gras légers de la fraction dissoute à une production biologique endogène au système karstique.

Dans leur article sur les GDGT, les résultats obtenus par [Blyth & Schouten \(2013\)](#) montrent clairement une différence de signal entre les sols, et les eaux d'écoulements et spéléothèmes. Le signal des concrétions est clairement dominé par des sources de production *in situ*, soit à l'intérieur de la cavité, soit dans la zone vadose sus-jacente. La contribution du sol apparaît dans ce cas comme mineure dans le signal lipidique.

Au contraire, le signal observé dans la stalagmite de l'Oregon analysée par [Rushdi et al. \(2011\)](#) composé de 42 à 90% par une contribution microbienne est tout de même attribué à un signal provenant du sol.

La source de lipides interne au système karstique implique une réponse parallèle des communautés microbiennes karstiques aux mêmes paramètres environnementaux et climatiques dans le cas d'une corrélation entre le signal lipidique du sol et des spéléothèmes. Elle peut également expliquer l'absence de relation entre certains indices et des paramètres climatiques et environnementaux habituellement corrélés lorsque les communautés microbiennes ne répondent pas à ces paramètres. Les différences observées dans les spéléothèmes suggèrent une contribution autochtone spécifique à chaque site, et nécessite donc d'être prise en compte lors de l'interprétation du signal lipidique des spéléothèmes.

Limites liées à la méthodologie Les lipides étant présents à l'état de trace dans les spéléothèmes, la phase d'extraction de ces composés est très consommatrice de matériel, entraînant une faible résolution temporelle des résultats. En effet, les travaux de [Rousseau et al. \(1995\)](#) et [Xie et al. \(2003, 2005\)](#) utilisent entre 70 et 100 g de calcite par échantillon, ce qui représente par exemple dans le cas du spéléothème analysé par [Xie et al. \(2003\)](#), une résolution entre 400 et 1000 ans.

La méthode d'extraction Soxhlet utilisée par [Xie et al. \(2003, 2005\)](#) a été par la suite remplacée par une extraction liquide/liquide suivant une dissolution à l'acide afin d'optimiser le rendement de l'extraction et de diminuer le signal de contamination visible dans les blancs ([Blyth et al. , 2006](#)). Cette évolution a permis de réduire la masse nécessaire à 1-10 g de calcite, notamment en récupérant le signal des composés piégés dans les cristaux en plus des composés intercristallins.

[Huang et al. \(2008\)](#) ont par la suite proposé un protocole combinant une extraction Soxhlet et une extraction liquide/liquide pour différencier la fraction "libre" de la fraction "liée" aux cristaux dans l'hypothèse où ces deux fractions proviendraient de différentes sources. Leurs résultats révèlent des différences entre les 2 fractions à la fois dans le type de composés et dans leurs concentrations pouvant indiquer des sources différentes. Cependant, à la suite des travaux de [Wynn & Brocks \(2014\)](#) sur la contamination des échantillons, les fractions adsorbées pourraient correspondre totalement ou en grande partie à des composés exogènes.

Enfin, dans l'étude publiée par [Bosle et al. \(2014\)](#), la masse de calcite a encore été réduite : seuls 0,5 à 3,5 g sont nécessaires. Les volumes d'eau nécessaires ont également été réduits de 4L ([Li et al. , 2011](#)) à 80-100 mL d'eau pour les analyses des eaux d'écoulement. Pour cela, les auteurs utilisent un HPLC-ESI-IT/MS⁴ pour quantifier les acides gras à faible poids moléculaire. Cette méthode donne des résultats fiables, et permet de réduire la taille des échantillons. Par ailleurs, elle ne nécessite pas de dérivation des molécules avant analyse, ce qui diminue le temps d'extraction et limite les contaminations ou les modifications du cortège moléculaire. Cependant, cette méthode reste spécifique

4. Chromatographie liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatography) couplée à un spectromètre de masse à ionisation par électronébulisation et analyseur "trappe d'ions" (Electrospray Ion-Trap Masse Spectrometer).

à l'analyse de certains composés et nécessite d'être développée pour rechercher une plus grande diversité de lipides.

Toutes ces techniques d'extraction et d'analyse sont très sensibles aux contaminations organiques. Les optimisations des protocoles citées précédemment ont permis de réduire les risques de contamination (Blyth *et al.* , 2006; Bosle *et al.* , 2014). Des précautions sont également prises quant à la "propreté" de la verrerie et des solvants utilisés (Blyth *et al.* , 2006; Bosle *et al.* , 2014). Ainsi, l'acide utilisé pour la dissolution de la calcite est généralement nettoyé avant de procéder à l'extraction (Blyth *et al.* , 2006). L'étude de Wynn & Brocks (2014) a cependant montré qu'une proportion importante des composés organiques provenaient de contaminations liées à la fois au stockage, aux manipulations et aux prélèvements préalables sur les échantillons. Pour réduire ce risque, les échantillons sont nettoyés (généralement à l'acide et au DCM) afin de retirer la couche superficielle considérée comme contenant une grande proportion de contamination (Blyth *et al.* , 2007; Blyth & Watson, 2009; Blyth *et al.* , 2010, 2011; Blyth & Schouten, 2013; Bosle *et al.* , 2014). Ce nettoyage des échantillons effectué avant extraction dans de nombreuses études permet de supprimer ou de limiter les pollutions. La présence et la distribution des biomarqueurs piégés dans les spéléothèmes n'est donc pas seulement dépendante de la source environnementale mais également des niveaux de contamination résultant des manipulations, du stockage, des prélèvements ou produits lors des étapes analytiques, aussi bien que du degré de perméabilité de la calcite à ces contaminants (Wynn & Brocks, 2014).

Les lipides représentent donc des biomarqueurs des différents compartiments des écosystèmes (végétation, microorganismes des sols et des aquifères karstiques) dont les variations peuvent être associées à des paramètres climatiques et/ou anthropiques. Ces particularités ont permis de développer plusieurs indices comme par exemple l'indice TEX₈₆ qui permet de retracer les variations de températures. Cependant, les mécanismes de transfert de ces composés, ainsi que l'impact des sources de production endogènes au système karstique sont méconnues, et leur influence sur l'interprétation du signal lipidique en termes d'enregistrement climatique et environnemental reste à définir. Par ailleurs, malgré l'attention particulière portée à l'utilisation de ces proxies dans les spéléothèmes ces 15 dernières années, les méthodes d'extraction restent sensibles aux contaminations et ne permettent pas d'obtenir un enregistrement à haute résolution.

Cependant, le couplage de proxies haute résolution moins informatifs avec la spécificité des informations environnementales apportée par l'utilisation de ces proxies permettrait d'améliorer la robustesse des interprétations.

3.4.2 Méthodologie pour l'extraction et la mesure des lipides

Les extractions et mesures des lipides contenus dans les spéléothèmes ont été réalisées au département de Chimie de l'Université de Curtin (Perth, Australie) sous la direction d'Alison Blyth, d'après les protocoles développés par [Blyth *et al.* \(2006, 2007, 2011\)](#). Les molécules ciblées dans cette étude sont les alcanes dont l'utilisation des ratios comme proxy environnemental a été validée dans plusieurs spéléothèmes sous différents environnements ([Blyth *et al.*, 2011](#)). Le ratio C_{27}/C_{31} notamment est un proxy du changement de végétation qui pourrait permettre :

- d'obtenir une information chronologique sur les variations de l'environnement préalpin, et notamment les pressions anthropiques ;
- d'identifier l'influence de la végétation sur le signal de plusieurs autres proxys organiques, à savoir les HAP, le $\delta^{13}C$ de la matière organique et de la calcite, et le signal de fluorescence.

C'est dans ce but que la fraction apolaire des lipides a été extraite et analysée selon la méthode présentée par la suite.

3.4.2.1 Échantillons

En raison des quantités importantes de matériel nécessaire, les prélèvements ont été effectués uniquement sur la stalagmite **GC-09B** dans un premier temps. Des blocs d'environ 20 g de calcite (13 échantillons) ont été découpés sur une tranche de la stalagmite et sont présentés dans la figure 2.19. Les échantillons 3 et 4 ont été regroupés comme un seul échantillon en raison de leur trop faible quantité de matériel. Un enregistrement à faible résolution résulte de la taille importante de ces prélèvements. Cependant, ces échantillons étant très informatifs et combinés avec d'autres échantillons mieux résolus, un enregistrement haute-résolution n'est pas indispensable.

3.4.2.2 Procédure d'extraction

Cette analyse étant particulièrement sensible aux contaminations organiques, plusieurs mesures, décrites par [Blyth *et al.* \(2006\)](#), ont été prises concernant la verrerie, les consommables et les solvants afin de minimiser le risque de pollution des échantillons. L'acide chlorhydrique utilisé pour la dissolution a été purifié par extraction liquide/liquide au DCM et répétée 6 fois. De même, pour éviter les contaminations liées à la manipulation, aux prélèvements et au stockage des spéléothèmes ([Wynn & Brocks, 2014](#)), les échantillons ont été nettoyés d'abord par dissolution de la couche de surface (quelques mm) à l'HCl 3M purifié, puis par rinçage à l'eau milliQ et au DCM. Afin d'extraire la matière organique contenue dans les spéléothèmes, les échantillons ont été dissous avec de l'HCl 3M purifié, puis portés à ébullition pendant 2h. Une extraction liquide/liquide au DCM (environ 30 mL) a ensuite été répétée 6 fois. Le solvant est alors évaporé au rotavapeur et l'échantillon est reconcentré sous flux d'azote. Afin d'enlever toute trace d'eau de l'échantillon, ce dernier

est passé sur une colonne de MgSO_4 préalablement chauffé à 50 °C. L'échantillon est ensuite évaporé à sec sous flux d'azote avant d'être repris dans de l'hexane pour être passé sur une colonne de silicates (SiOH) afin de mobiliser la fraction non polaire.

3.4.2.3 Analyse

Les échantillons ont été analysés avec une chromatographie en phase gazeuse Hewlett Packard (HP) 6890 couplée à un spectromètre de masse HP 5973. Ils ont été injectés à l'aide d'un passeur automatique HP 6890 Series dans un injecteur "*Split-Splitless*" en mode "*Splitless*" (mode d'injection utilisé pour les mesures de trace permettant d'injecter tout l'échantillon). Les composés sont ensuite séparés sur une colonne DB5-MS (Agilent Technologies, longueur 60 mm, diamètre 0.25 mm, épaisseur 0.25 μm) sous flux d'hélium (débit 1.1 mL/min). Le four de la chromatographie augmente de 40 à 320°C (paliers de 25 min) à 20°C/min. Les échantillons sont ensuite détectés par le spectromètre de masse.

3.4.3 Résultats méthodologiques

Les échantillons analysés ont tous montrés une contamination. La cause n'a pas été identifiée mais une pollution de l'acide utilisé pour la dissolution est supposée pour les premiers échantillons les plus pollués (l'acide ayant été changé par la suite). Aucun résultat concernant les analyses lipidiques n'est donc disponible dans cette thèse.

Résumé :

- biomarqueurs de la contribution des différents compartiments des écosystèmes
- renseignent sur la proportion de la contribution des végétaux et bactéries, le type de végétation ou encore les processus microbiens en lien avec les changements climatiques et/ou environnementaux
- source pédologique parfois combinée, voir remplacée par une source *in situ*, due à la production microbienne au sein du système karstique
- méconnaissance des mécanismes de transfert, et notamment la sélectivité du transfert selon le type de molécules lipidiques
- méthodes d'extraction et d'analyse souvent consommatrices de matériel et sensibles aux contaminations organiques

Les essais réalisés à l'Université de Curtin présentent une contamination importante, rendant les résultats inexploitable. Ces tests montrent bien le caractère exploratoire de ces techniques d'extraction et d'analyses et leur sensibilité aux contaminations organiques.

3.5 Conclusions

Ce chapitre souligne l'intérêt des proxies organiques, actuellement en développement, pour l'interprétation des variations environnementales. Si les mécanismes de transfert aux spéléothèmes de ces indicateurs restent un point critique dans la compréhension de leur réponse aux variations climatiques et/ou environnementales, le couplage de ces derniers représente une manière d'extraire une information paléoenvironnementale plus robuste.

Cependant, du fait de leur développement récent, les techniques analytiques ne permettent pas toujours d'obtenir des résultats fiables. Leur sensibilité aux contaminations organiques représente une limite à l'utilisation en routine de ces proxies, notamment au vu de la quantité de matériel nécessaire. Ceci implique une optimisation des protocoles analytiques, qui doit par ailleurs être combinée à une amélioration des connaissances du transfert et de l'incorporation de ces composés afin d'obtenir une interprétation plus robuste.

Le travail analytique mené dans cette thèse pour extraire les HAP et les lipides des spéléothèmes, à EDYTEM mais également dans des laboratoires spécialisés, n'a pas permis d'obtenir des résultats exploitables. Les échantillons pour les analyses lipidiques présentent une contamination importante. Le développement méthodologique pour extraire les HAP à partir d'échantillons de moins de 5 g n'a pas permis d'obtenir des résultats fiables. Ceci indique que le type d'écoulement alimentant le spéléothème testé, ne permet vraisemblablement pas un transfert effectif de ces molécules pour obtenir un enregistrement analysable à haute-résolution. Les données isotopiques du carbone de la matière organique dissoute présentent des dérives difficilement identifiables et ne semblent pas répliquables puisque les tests inter-laboratoires ne permettent pas d'obtenir les mêmes résultats. Ces données seront donc à considérer avec précaution.

CHAPITRE 4

La fluorescence de la matière organique

Objectifs :

- Utilisation d'une technique de mesure de fluorescence UV en phase solide pour obtenir un enregistrement haute-résolution des variations semi-quantitatives et qualitatives de la matière organique piégée dans les spéléothèmes
- Optimisation du protocole pour limiter les biais liés à la mesure en phase solide
- Développement d'une méthode de quantification du signal de fluorescence pour obtenir les variations de quantité de la matière organique à haute résolution

4.1 État de l'art

Les premières observations de la fluorescence des spéléothèmes ont été faites par des spéléologues ayant noté que les spéléothèmes restaient lumineux après des photographies au flash ([O'Brien, 1956](#)). Ce signal a par la suite été associé à la matière organique dissoute (MOD) lessivée depuis les sols et incorporée dans les spéléothèmes lors de la formation de ces derniers ([White & Brennan, 1989](#)). L'utilisation de la matière organique comme proxy dans les spéléothèmes a été fortement influencée par la découverte ces propriétés de fluorescence.

4.1.1 Signal de fluorescence de la matière organique

La fluorescence est un phénomène lumineux correspondant à l'émission d'un photon, après l'absorption d'un photon par une molécule. Ce processus entraîne une transition électronique au niveau des électrons mis en jeu dans les liaisons moléculaires, faisant passer la molécule d'un état fondamental à un état excité. Le phénomène de fluorescence correspond

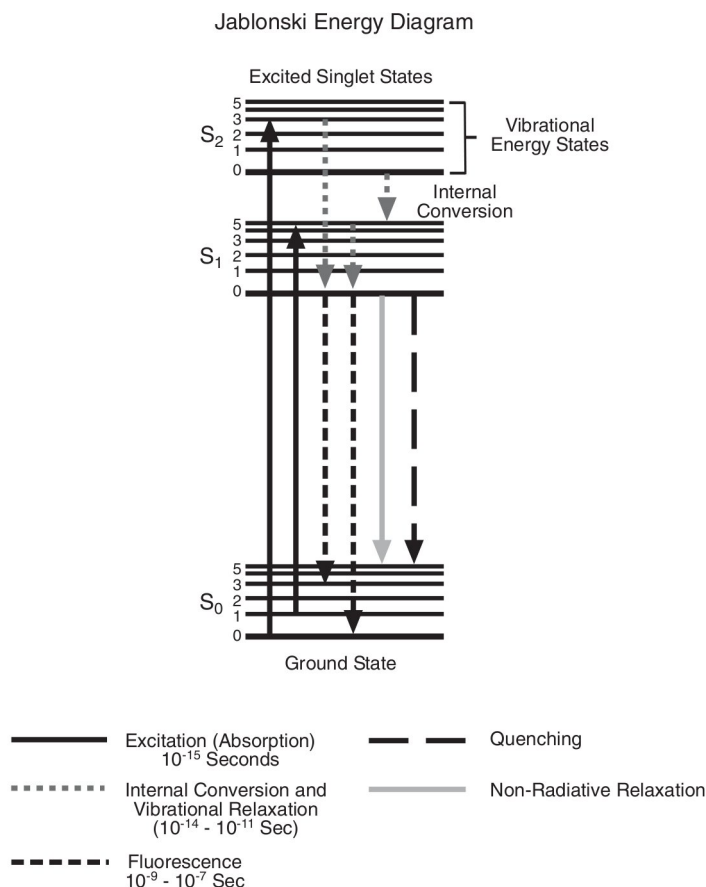


Figure 4.1 – Diagramme énergétique de Jablonski représentant les changements d'états électronique d'une molécule à l'origine du phénomène de fluorescence dans le cas d'un état singulet (figure de [Hudson et al. \(2007\)](#)).

à une émission de photons due à la relaxation vibrationnelle d'un état singulet S_1 vers l'état fondamental S_0 (figure 4.1).

Une partie des molécules de la matière organique, principalement les groupements aromatiques, présentent des propriétés de fluorescence. La caractéristique structurale des molécules responsable de la fluorescence, liée à l'agencement des liaisons chimiques, est nommée un **fluorophore**. La fluorescence a beaucoup été étudiée dans les eaux, en environnement marin comme en environnement continental (ex. [de Souza Sierra et al. , 1997](#); [Baker & Genty, 1999](#); [Mounier et al. , 1999](#); [Parlanti et al. , 2000](#); [McKnight et al. , 2001](#); [Hudson et al. , 2007](#); [Huguet et al. , 2009](#); [Birdwell & Engel, 2010](#)), et est caractérisée par des domaines de fluorescence spécifiques selon le type de matière organique (figure 4.2) :

- Les pics A et C (respectivement λ_{ex} 240-260 nm, λ_{em} 400-460 nm et λ_{ex} 320-360 nm, λ_{em} 420-460 nm) correspondent aux substances de type humique, ou *humic-like*

(HL¹), qui sont caractérisées par des propriétés spectrales similaires à celles des molécules humiques et fulviques isolées (Birdwell & Engel, 2010). Ce sont des associations moléculaires résultant de la dégradation et de la réorganisation des macromolécules végétales lors de l'activité microbienne.

- Les pics T et B (respectivement λ_{ex} 270-280 nm, λ_{em} 345-360 nm et λ_{ex} 270-280 nm, λ_{em} 300-315 nm) sont quant à eux associés aux composés de type protéiques ou *protein-like* (PL) correspondant aux signaux de fluorescence des acides aminés, tyrosine et tryptophane. Ils correspondent à des produits microbiens : des molécules ou groupement de molécules présentant par exemple, des liaisons carboxyliques (-COOH) ou hydroxyliques (-OH) résultant de l'oxydation due à l'activité microbienne (Parlanti *et al.*, 2000). Baker *et al.* (2008a) associent le pic T à la dégradation microbienne de la matière organique.
- Le pic M (λ_{ex} 290-310 nm, λ_{em} 370-410 nm) est généralement un marqueur des humiques marins, mais a pu être associé à des apports anthropiques dans les eaux naturelles (Stedmon & Markager, 2005) ou à des précurseurs du pic C, comme les polyphénols par exemple (Burdige *et al.*, 2004).

La présence et la proportion de ces différents pics peut varier selon les systèmes et leur contribution relative peut ainsi refléter différentes origines ou différents stades d'arrangement moléculaire de la matière organique (Birdwell & Engel, 2010).

Parmi les paramètres de fluorescence mesurables, l'intensité de fluorescence et les longueurs d'onde d'émission sont principalement utilisées. Leurs variations sont respectivement associées à :

- des **variations de la quantité relative** de matière organique présente dans le système pour **l'intensité**. En effet, les augmentations de l'intensité de fluorescence traduisent une augmentation de la quantité de la matière organique (ex. Baker & Lamont-Black, 2001; Stedmon *et al.*, 2003; Perrette *et al.*, 2005; Baker *et al.*, 2008a; Huguet *et al.*, 2009). Dans les eaux karstiques, ce paramètre a été utilisé pour quantifier la matière organique ; les augmentations de l'intensité de fluorescence étant corrélées aux augmentations en Carbone Organique Total (COT) de manière linéaire (Charlier *et al.*, 2010, 2012). Cependant, cette corrélation n'est pas toujours observée, ou pas de manière constante selon les systèmes (ex. Cruz Jr. *et al.*, 2005; Tissier *et al.*, 2013; Quiers *et al.*, 2014). Ceci peut être expliqué par des variations de la proportion de molécules organiques non fluorescentes et/ou de la qualité de la matière organique, qui peuvent modifier cette relation. Certains fluorophores, en particulier ceux associés aux HL, présentent une corrélation avec le COT alors que les périodes présentant un plus grand apport de PL diminuent cette corrélation (Mudarra *et al.*, 2011; Tissier *et al.*, 2013).

1. Dans cette thèse, les groupements moléculaires définis comme acide humique et acide fulvique seront regroupés sous le terme humic-like.

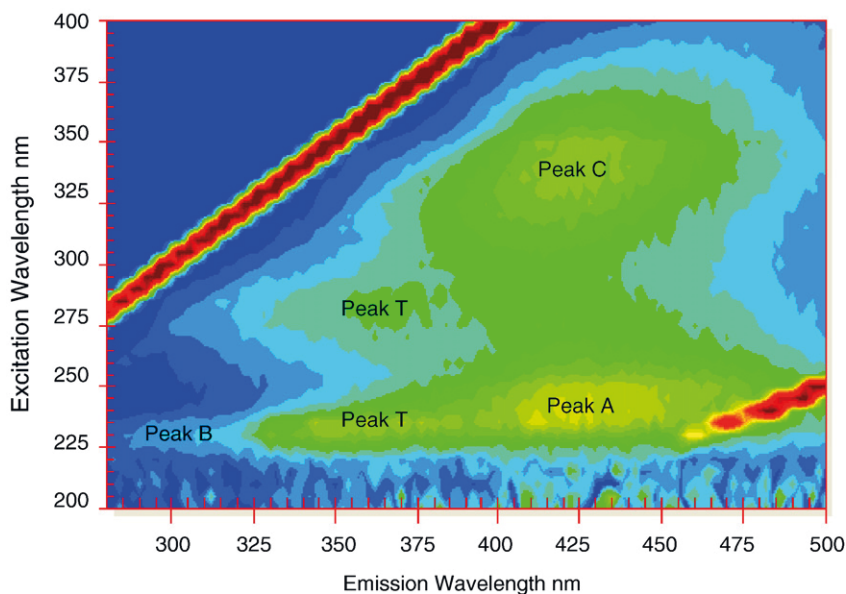


Figure 4.2 – Exemple d'un spectre 3D de fluorescence (Matrice d'Excitation-Emission) illustrant la position des pics de composés humic-like C et A et des pics de composés protein-like T et B tels que décrits par Coble (1996) (figure de Hudson *et al.*, 2008).

- des **changements de sources ou de structure des molécules** pour les **longueurs d'onde d'émission**. Les variations de la longueur d'onde d'émission à l'intensité maximale (λ_{max}) par exemple représentent les variations dans la structure et la taille des molécules, un décalage vers des longueurs d'onde plus importantes traduisant des molécules plus grosses et/ou plus aromatiques (Perrette *et al.*, 2005; Baker *et al.*, 2008b).

D'autres paramètres peuvent interférer et modifier le signal de fluorescence :

- **phénomènes de quenching**. Ce sont des phénomènes de diminution du rendement quantique des fluorophores dus à une perte d'énergie non radiative sous l'effet de paramètres caractérisant la solution, tels que le type de solvant ou la présence d'autres fluorophores. Le quenching peut être statique ou dynamique. Dans le premier cas, le fluorophore forme un complexe non fluorescent à l'état fondamental avec un inhibiteur (*quencheur*). Ce complexe non fluorescent peut se former par complexation d'un groupement moléculaire organique avec une autre molécule (ex. métaux) ou par un réarrangement des associations supramoléculaires, limitant les transitions électroniques. Dans le second cas, le fluorophore est désactivé alors qu'il est à l'état excité, par contact avec une autre molécule. La collision est un processus dépeuplant l'état excité et entraînant un retour à l'état stable sans émission de photon. Ce phénomène est également appelé *quenching collisionnel*.

Les phénomènes de quenching entraînent donc une décroissance du signal de fluorescence liée à l'interaction, stable ou non, avec d'autres molécules de la solution. Les ions métalliques ont une affinité particulière avec la matière organique qui est souvent un vecteur de transport de ces éléments vers les systèmes karstiques (Borsato *et al.*, 2007; Hartland *et al.*, 2012; Orland *et al.*, 2012). Ces complexations donnent lieu à un phénomène de quenching qui influence fortement le signal de fluorescence (Hartland *et al.*, 2010), notamment en diminuant l'intensité de fluorescence. La présence de particules dans la solution ou encore les solutions en forte concentration et le réarrangement des molécules organiques peuvent également entraîner des phénomènes de quenching.

- **pH.** Les changements de pH induisent des variations de la conformation des molécules; une diminution du pH entraînant une aggrégation des molécules organiques pouvant inhiber une partie des fluorophores. Les augmentations du pH sont généralement associées à une augmentation de l'intensité de fluorescence plus ou moins importante et constante selon les fluorophores et selon les études. Ces changements sont réversibles. Dans les systèmes aquatiques, le pH varie généralement entre 5 et 7. Dans cette gamme, l'intensité de fluorescence de tous les fluorophores augmente généralement d'environ 10% (Hudson *et al.*, 2007). Au regard de la variabilité importante du signal induite par les changements de matière organique, ces variations sont considérées comme négligeables dans les analyses de fluorescence.
- **température.** Plusieurs études ont montré que la fluorescence est inversement corrélée à la température, l'augmentation de cette dernière entraînant l'augmentation des phénomènes de quenching collisionnels. Les analyses étant réalisées à température constante (20°C), ces effets sont également considérés comme négligeables (Hudson *et al.*, 2007).

Ces paramètres sont connus pour interférer dans le signal de fluorescence en solution liquide. En solution solide, ils restent toutefois limités. La fluorescence de la matière organique est donc un outil rapide, peu coûteux, et déjà très développé dans les eaux naturelles, permettant d'évaluer les variations de quantité et de qualité de la matière organique avec fiabilité.

4.1.2 Utilisation de la fluorescence dans les spéléothèmes

Le signal de fluorescence des spéléothèmes est dominé par des longueurs d'onde d'excitation entre 300 et 420 nm et un domaine d'émission entre 400 et 480 nm, se divisant généralement en deux pics caractéristiques de groupements moléculaires associés aux acides humiques et surtout aux acides fulviques (figure 4.3, van Beynen *et al.*, 2001; Sundqvist *et al.*, 2005; Blyth *et al.*, 2008; Fairchild & Baker, 2012; Smailier & White, 2013; Li *et al.*, 2014). Hartland *et al.* (2010) ont montré que les propriétés de fluorescence des eaux d'écoulement sont fortement similaires à celles des spéléothèmes. Or, plusieurs études

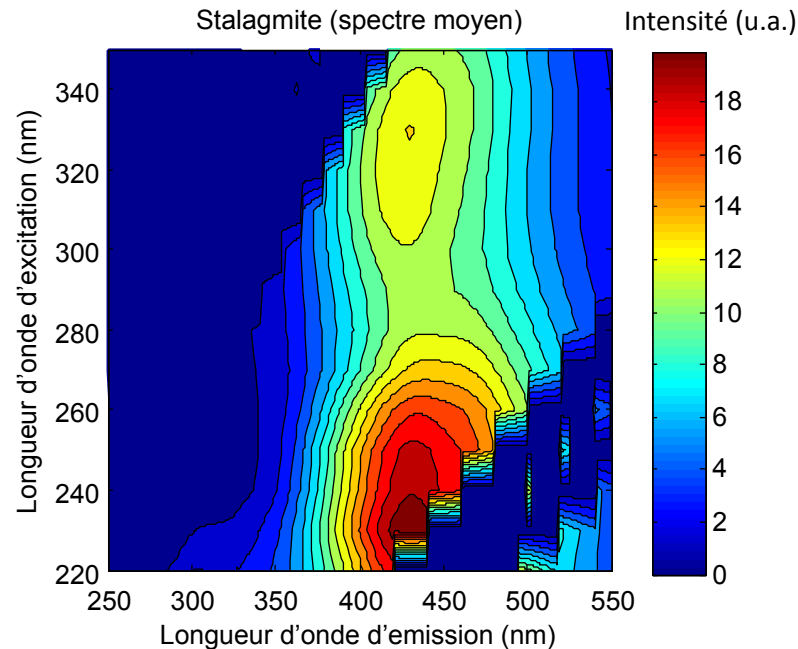


Figure 4.3 – Exemple d'un spectre 3D (EEM) moyen de fluorescence en phase liquide d'un échantillon de spéléothème.

observent que ces régions de fluorescence, et en particulier celle correspondant au pic C, présentent une intensité corrélée aux concentrations en carbone organique dissous (COD) (Baker & Spencer, 2004; Hudson *et al.*, 2007; Tissier *et al.*, 2013) et une longueur d'onde d'émission liée au poids moléculaire, à l'hydrophobicité et/ou l'aromaticité des molécules (Baker *et al.*, 2008a). Les facteurs d'influence des variations de quantité et de qualité de la matière organique enregistrées dans les spéléothèmes, sont donc inhérents à ceux régissant les variations de la MOD dans les eaux d'écoulement.

4.1.2.1 Signal de la fluorescence dans les eaux d'écoulement : des sols aux spéléothèmes

Les variations du signal de fluorescence des eaux d'écoulement, et par conséquent celui des spéléothèmes, reflètent les variations de la matière organique des différents compartiments des écosystèmes (figure 4.4), influencées par divers facteurs climatiques et environnementaux :

- le compartiment végétal ;
- le compartiment sol ;
- le compartiment karst.

Dans le compartiment végétal, le signal de fluorescence de la matière organique peut être influencé par le type de couvert végétal et la production végétale. [Bu et al. \(2010\)](#) montrent par exemple que l'émission de fluorescence est décalée vers des longueurs d'ondes d'émission plus courtes (effet *hypsochromique*) sous couvert prairial en comparaison d'un couvert résineux. Ceci est lié à une différence de dynamique de la MO selon les couverts végétaux, caractérisée en prairie par une proportion plus importante de groupements hydroxyliques et carboxyliques. [Xie et al. \(2008\)](#) associent également les variations de l'intensité et des longueurs d'onde d'excitation avec les changements de type de végétation qui influencent le degré d'humification. Le changement de couvert végétal peut également montrer un signal inverse. L'augmentation de l'humidité des sols due à la disparition du couvert forestier peut entraîner une augmentation des molécules à plus fort poids moléculaire, et donc un décalage vers des longueurs d'onde d'émission plus longues (effet *bathochromique* [McGarry & Baker, 2000](#)).

En plus de l'espèce, la productivité végétale est dépendante des conditions climatiques (principalement la température et de l'humidité). Des conditions climatiques favorables augmentent ainsi la quantité de matière fournie au système (et donc l'intensité du signal de fluorescence). Si quelques études ont observé des changements saisonniers dans la concentration en COD, reliée à la chute des feuilles, l'importance de ce phénomène n'est pas toujours claire. L'augmentation de la production de la litière résulterait en une augmentation de la concentration et des flux de MOD ([Kalbitz et al. , 2000](#)).

Dans le compartiment sol, la nature et la disponibilité de la matière organique sont influencées par des processus biotiques et abiotiques (humification et sorption par exemple), dépendant de paramètres climatiques : principalement la température et l'humidité.

L'augmentation des températures entraîne généralement une augmentation des concentrations en COD se traduisant par une augmentation de l'intensité de fluorescence ([McGarry & Baker, 2000](#)). Elle accélère également l'activité microbienne et donc la transformation des acides hydrophobes en acides hydrophiles, augmentant la proportion de cette fraction ([Christ & David, 1996](#)). Ceci peut conduire à un décalage hypsochromique de l'émission de fluorescence de la MOD. Ainsi, [Baker & Genty \(1999\)](#) associent par exemple les différences de signal entre l'automne et l'hiver à du matériel fortement humifié arrivant en automne, alors que les flux hivernaux transportent du matériel dont l'humification a été limitée par les conditions froides et humides.

L'humidité est également un facteur d'influence des processus microbiens. Ainsi, elle augmente la quantité de MOD et principalement la FHO du fait de la diminution de l'activité microbienne résultant en un décalage bathochromique de l'émission de fluorescence ([McGarry & Baker, 2000](#)). Au vu des caractéristiques climatiques de l'aire d'étude, ce paramètre ne semble cependant pas être un facteur déterminant.

Il est important de noter que la matière organique subit plusieurs cycles impliquant des processus biotiques et abiotiques (sorption, complexation, précipitation, aggrégation) modifiant constamment les assemblages moléculaires et leur disponibilité ([Kaiser & Kalbitz,](#)

2012). Ceci se caractérise par une évolution de la nature et de la quantité de la matière organique lors de son transport jusqu'aux horizons profonds. Par ailleurs, les processus microbiens anaérobies dans les horizons profonds sont moins sensibles aux paramètres climatiques et peuvent donc modifier les réponses de la matière organique à ces derniers.

La signature du signal de fluorescence des eaux d'écoulement est modifiée par son transfert vers les spéléothèmes et présente ainsi quelques différences avec celle des sols. Elle est caractérisée par :

- une concentration en MOD est très inférieure à celle des sols (van Beynen *et al.* , 2000; Cruz Jr. *et al.* , 2005; Hartland *et al.* , 2010; Simon *et al.* , 2010)
- une modification de la distribution moléculaire déterminée par une plus grande proportion de composés hydrophiles (van Beynen *et al.* , 2000).

Ces modifications peuvent être expliquées de différentes manières :

- l'hydrophobicité de ces molécules peut entraîner une sorption, une floculation ou une rétention préférentielle pendant le transport depuis les sols (Baker & Genty, 1999; van Beynen *et al.* , 2000)
- une activité microbienne *in situ* peut entraîner ces modifications par les processus de minéralisation et de production microbienne (Birdwell & Engel, 2010; Hartland *et al.* , 2010; Mudarra *et al.* , 2011; Simon *et al.* , 2010).

Il en résulte que la fraction particulaire est généralement variable, voir absente, selon les spéléothèmes mais tous contiennent les fractions dissoutes (van Beynen *et al.* , 2000). La fraction majoritaire est généralement constituée de molécules de petites tailles (fraction hydrophile et neutre, van Beynen *et al.* , 2000) et la plupart des études observent une réduction des composés fulviques, humiques et plus généralement à fort poids moléculaire lors du transport depuis le sol (Baker & Genty, 1999; Xie *et al.* , 2008; Simon *et al.* , 2010). Ainsi, dans les eaux d'écoulement, Baker & Genty (1999) et Xie *et al.* (2008) par exemple, n'observent pas de fluorescence associée aux acides humiques. Ces observations sont cohérentes avec les propriétés d'hydrophobicité des molécules. Le transport des molécules plus hydrophiles vers le système karstique est favorisé par rapport à celui des molécules plus hydrophobes, préférentiellement retenues dans les sols. L'étude de Smailer & White (2013) sur la taille des fractions moléculaires fluorescentes dans les stalagmites montre également que les espèces dominantes sont principalement dans la gamme de taille des acides fulviques. Ils soulignent cependant que les molécules à plus fort poids moléculaire ont également une contribution, selon les spéléothèmes. La présence de ces molécules peut être associée à un changement de la dynamique de la matière organique dans les sols mais également à des phénomènes d'érosion ou à un réarrangement moléculaire. Il résulte de la dernière hypothèse un signal de fluorescence correspondant à un poids moléculaire plus important, en réalité associé à une aggrégation de plusieurs molécules au cours du temps. Ce mécanisme est notamment important pour des concentrations plus élevées pouvant être

liées à une augmentation du transfert depuis les sols ou à la cinétique d'incorporation de la matière organique dans le spéléothème.

Dans beaucoup de systèmes karstiques, le signal de fluorescence est également fortement influencé par les modes de transport de la matière organique. Il est notamment sensible :

- aux volumes, intensités et distributions des pluies
- aux chemins d'infiltration et aux mélanges d'eau au sein du système
- à l'activité biologique au sein du système

Les liens entre les précipitations, le débit, et les intensités de fluorescence peuvent être contradictoires selon les études. Dans certains cas, les évolutions du signal de fluorescence reflètent celles des événements pluvieux (Hartland *et al.*, 2012; Mudarra *et al.*, 2011) alors que dans d'autres systèmes, la relation est présente avec un délai, certaines conditions particulières, absente pour certains écoulements, ou encore complètement absente (Baker *et al.*, 1997b; Cruz Jr. *et al.*, 2005; Ban *et al.*, 2008). Dans les eaux de percolation, le signal de fluorescence est fortement influencé par le transport et les effets de dilution dépendant de l'organisation géomorphologique des différents systèmes karstiques (Baker & Lamont-Black, 2001). Cruz Jr. *et al.* (2005) observent par exemple que le signal de fluorescence des égouttements rapides qu'ils étudient est corrélé aux événements pluvieux importants alors ce n'est pas le cas des égouttements lents. Cependant, tous les types d'égouttements présentent une réponse aux changements climatiques inter-annuels. Plusieurs auteurs rapportent un délai du signal de fluorescence dû à un stockage des eaux (Baker *et al.*, 1999a; Cruz Jr. *et al.*, 2005; Rutledge *et al.*, 2014). Hartland *et al.* (2012) montrent également que le type de matière organique transmis selon les conditions d'écoulement diffère. Ainsi sous un écoulement induit par une fracture, la fraction dissoute et la fraction particulaire circulent à la même vitesse. Sous infiltration lente (percolation) au contraire, la fraction particulaire est transportée plus rapidement que la fraction assimilée au matériel dissous, entraînant une atténuation de la réponse aux événements pluvieux. La différence de signal sous infiltration lente peut également être imputée à un réarrangement des molécules organiques au cours du temps. Des processus d'absorption des molécules peuvent également avoir lieu au sein du système, entraînant une diminution de l'intensité de fluorescence avec la profondeur (McGarry & Baker, 2000). Les différents types de matière organique ne sont donc pas toujours transférés de la même manière et peuvent être utilisés comme des proxies différents. Ainsi en milieu karstique, les HL seraient plus appropriés à tracer les flux de surface provenant du sol alors que les PL sont plus adaptés au traçage d'une production *in situ*, d'une pollution ou d'une source de matière organique particulière transmise ponctuellement au système (matière organique fraîche par exemple) (Baker & Lamont-Black, 2001; Mudarra *et al.*, 2011; Simon *et al.*, 2010; Tissier *et al.*, 2013; Quiers *et al.*, 2014). La décomposition du signal de fluorescence en différents fluorophores peut donc s'avérer très utile afin de différencier les signaux des différents types de matière organique.

Sous un même environnement, si les dynamiques de transport sont le facteur de contrôle principal et différent, deux spéléothèmes prélevés à quelques centimètres d'écart peuvent alors présenter un signal de fluorescence différent (Crowell & White, 2012). L'assemblage des facteurs de contrôle de la fluorescence implique que, deux spéléothèmes répondant différemment selon leurs conditions d'alimentation peuvent tout de même présenter une même réponse à un changement environnemental ou climatique important, si celui-ci devient prédominant.

Le signal de fluorescence dans les spéléothèmes est donc premièrement un signal reflétant la réponse du sol et de la végétation aux variations climatiques et environnementales. Il est cependant modifié par rapport à ce signal initial, de manière abiotique et/ou biotique. Les modalités de transport dans le système karstique sont un facteur clé qui contrôle le signal de fluorescence aux points d'écoulement mais qui reste encore méconnu, et qui peut être spécifique à chaque spéléothème.

4.1.2.2 Interprétation du signal de fluorescence dans les spéléothèmes

En raison des différents facteurs de contrôle cités précédemment, le signal de fluorescence de la matière organique des spéléothèmes devrait refléter des variations climatiques et environnementales.

Les longueurs d'onde et les variations d'intensité de fluorescence ont donc été associées à ces paramètres dans les études sur les spéléothèmes. Par ailleurs, plusieurs de ces travaux utilisent également l'indice de fluorescence, correspondant au ratio des intensités de fluorescence à 514 sur 457 nm, pour enregistrer les changements de qualité de matière organique. Ainsi, les variations de longueurs d'onde et de l'indice de fluorescence ont par exemple été utilisées pour déterminer :

- **les réponses des sols et de la végétation à des variations climatiques ou environnementales à long terme** (Baker *et al.* , 1998, 2000; Proctor *et al.* , 2000). Baker *et al.* (2000) par exemple couplent l'observation de l'intensité et des longueurs d'onde d'émission de fluorescence. Ils associent leurs variations à des réponses du sol à un changement de la végétation en réponse à des changements climatiques et anthropiques. Ainsi, ils expliquent l'augmentation des longueurs d'onde d'émission et de l'intensité de fluorescence observées sur les 4000 dernières années de dépôts de leur stalagmite par une déforestation induite par les pratiques agricoles sur le site. Proctor *et al.* (2000) relie les changements de longueurs d'onde d'émission aux variations du degré d'humification d'une tourbière sus-jacente à la grotte, induites par les variations d'humidité.
- **la réponse du système aux variations climatiques** (Perrette *et al.* , 2000; Asrat *et al.* , 2007). Ainsi, Asrat *et al.* (2007) par exemple relie l'indice de fluorescence à la proportion d'apport des composantes de surface ou de stockage. La diminution de la proportion de molécules plus aromatiques et/ou à plus fort poids moléculaire (diminution de l'indice de fluorescence) est expliquée par un changement d'écoulement.

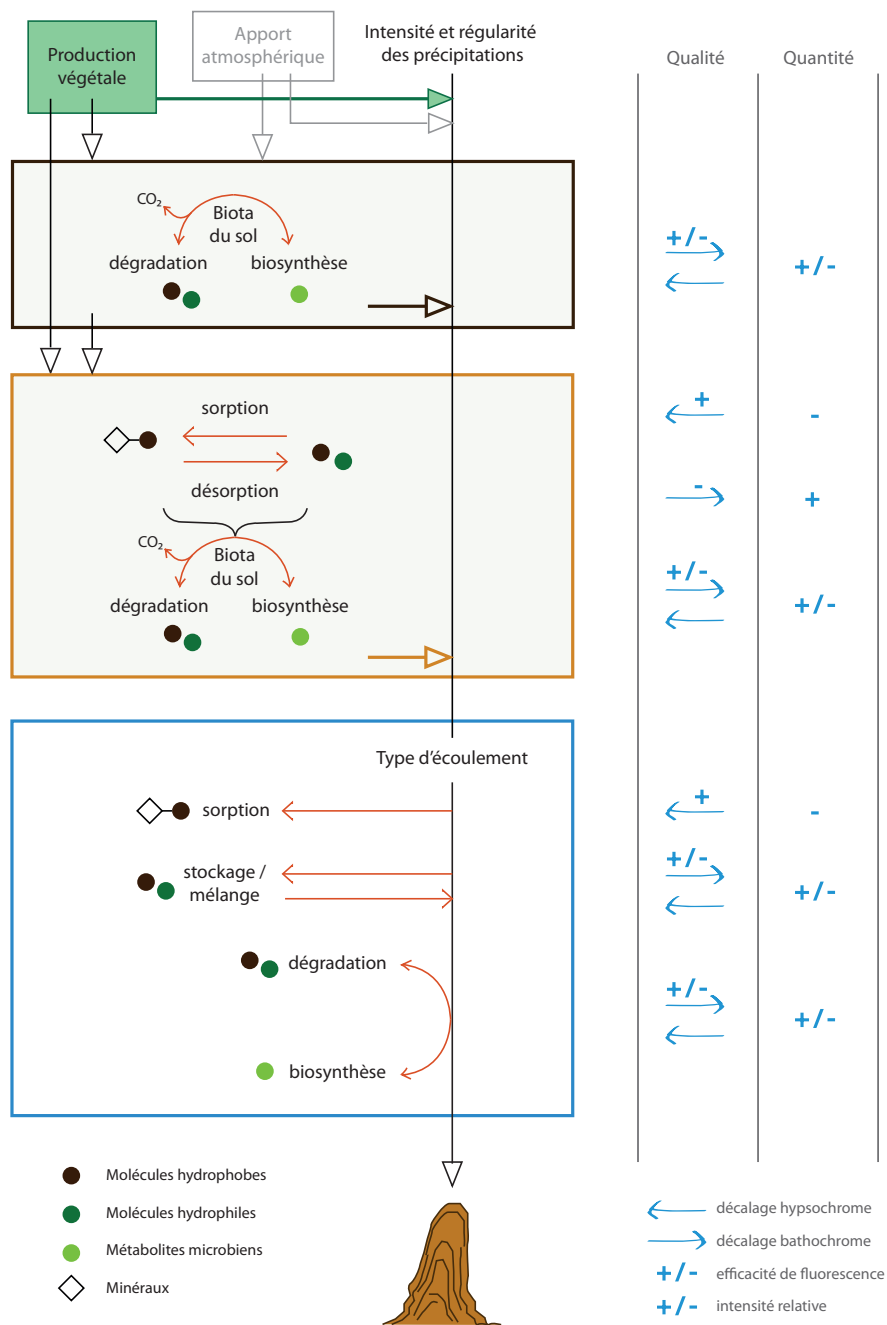


Figure 4.4 – Schéma des facteurs de modifications de la matière organique lors de son passage dans les sols et le substrat géologique avant incorporation dans les spéléothèmes (en partie d’après Shen *et al.* (2015)).

Celui-ci passe d'un flux d'eau faible avec une importante connectivité avec la surface vers des flux plus importants, caractérisés par une augmentation de la contribution d'eaux souterraines stockées.

Les variations d'intensité de fluorescence ont été reliées aux variations de concentrations saisonnières influencées par les variations hydrologiques, soit lors de périodes caractéristiques comme la fonte des neiges ([Linge et al. , 2009](#)) ou la mousson ([Tan et al. , 2006](#)), soit en lien avec les précipitations effectives ([Proctor et al. , 2000](#)). Plusieurs études utilisent donc ces variations comme proxy des paléoprécipitations (ex. [Baker et al. , 1993](#); [Shopov et al. , 1994](#); [Genty et al. , 1997](#); [Baker et al. , 1999b](#); [Brennan & White, 2013](#)). Ces variations peuvent entraîner la formation de lamines fluorescentes ([Shopov et al. , 1989](#); [Genty, 1992](#); [Baker et al. , 1993](#)). Celles-ci ont été utilisées pour une application chronologique, afin de contraindre des modèles d'âge (ex. [Baker et al. , 1993](#); [Genty et al. , 1998](#); [Perrette et al. , 2008](#); [Orland et al. , 2012](#)), et dans un but paléoclimatique où le taux de croissance déterminé a été relié à des facteurs environnementaux et climatiques. Elles ont notamment été corrélées avec la NAO, les températures hivernales ou les températures estivales selon les systèmes ([Proctor et al. , 2000](#); [Frisia et al. , 2003](#); [Tan et al. , 2003](#)).

L'analyse des variations de fluorescence à long terme a été utilisée pour tracer la réponse du sol aux changements climatiques comme la température du sol ([Stoykova et al. , 2005](#)) ou l'influence des conditions humides sur les sols et les écoulements. [Webb et al. \(2014\)](#) associent par exemple l'augmentation de l'intensité de fluorescence avec des conditions humides augmentant la disponibilité de la matière organique et son transport par la recharge de l'aquifère ([Webb et al. , 2014](#)). [Orland et al. \(2012\)](#) utilisent la variabilité de l'intensité de fluorescence pour identifier deux types d'infiltration de matière organique reliés aux conditions climatiques, les conditions humides entraînant l'apport de matière particulaire (colloïdes et plus petites molécules). [Baker et al. \(2000\)](#) associent également les variations d'intensité de fluorescence avec la concentration en carbone organique, induites par un changement anthropique des sols et de la végétation, par la mise en culture d'une forêt. La prépondérance des facteurs climatiques et environnementaux affectant le signal de fluorescence de la matière organique peut varier suivant l'échelle de temps (annuelle, décennale, millénale), modifiant ainsi l'interprétation du proxy ([McGarry & Baker, 2000](#)).

Comme spécifié précédemment, les modalités de transport peuvent se surimposer aux facteurs environnementaux et climatiques influençant le signal de fluorescence de la matière organique. Ainsi, ([Crowell & White, 2012](#)) observent des signaux différents dans des carottes de plancher stalagmitique prélevées à 50 m et à moins d'un centimètre d'écart. Des spéléothèmes, même proches, peuvent donc présenter des réponses différentes aux variations environnementales et climatiques ([van Beynen et al. , 2001](#); [Sundqvist et al. , 2005](#); [Brennan & White, 2013](#)) du fait des variations des facteurs de contrôle du transfert de la matière organique. Par ailleurs, [Smaier & White \(2013\)](#) ou ([Brennan & White, 2013](#)), en comparant plusieurs spéléothèmes sous différents contextes climatiques et géologiques, n'observent pas d'organisation du signal de fluorescence en fonction de ces paramètres.

4.1.2.3 Mesure du signal de fluorescence dans les spéléothèmes

La mesure du signal de fluorescence peut s'effectuer en phase liquide, après dissolution des échantillons de calcite. Cette technique a été peu utilisée ([Ramseyer et al. , 1997](#); [van Beynen et al. , 2001](#); [Brennan & White, 2013](#); [Smailer & White, 2013](#); [Li et al. , 2014](#); [Quiers et al. , 2015](#)) car elle est destructive et nécessite dans la plupart des cas, une quantité importante de matériel, limitant la résolution de l'enregistrement. Par ailleurs, les techniques de dissolution de la calcite à l'acide peuvent également entraîner une modification du signal de fluorescence avec la diminution du pH, et notamment causer la floculation des molécules de type humique. Les mesures de la fluorescence de la matière organique des spéléothèmes se fait donc généralement en phase solide.

Les mesures de fluorescence de la matière organique en phase solide sont relativement peu développées comparativement aux mesures en phase liquide. Un certain nombre d'études dans la littérature ont cependant appliqué cette technique afin de caractériser la matière organique dans différents types d'échantillons comme les produits pharmaceutiques ([Moreira et al. , 2004](#); [Alves & Poppi, 2013](#)), la nourriture ([Gatellier et al. , 2007](#); [Karoui et al. , 2007](#)), le compost ([Albrecht et al. , 2015](#)), les déchets organiques solides ([Muller et al. , 2011](#)), les sols ([Milorì et al. , 2006](#); [González-Pérez et al. , 2007](#); [Dieckow et al. , 2009](#); [Martins et al. , 2011](#); [Tivet et al. , 2013](#)), les sédiments marins et lacustres ([Chen et al. , 2000](#); [Jouot, 2013](#)), ou encore les coraux ([Matthews et al. , 1996](#); [Ramseyer et al. , 1997](#)). Si ces études soulignent généralement le potentiel de ces techniques en phase solide, elles notent cependant l'influence de divers paramètres perturbant l'enregistrement du signal de fluorescence, liés à la matrice solide. Ces paramètres peuvent correspondre à :

- un quenching lié à la concentration importante du matériel organique dans les échantillons ([Muller et al. , 2011](#); [Ammari et al. , 2014](#)) ;
- un effet de filtre interne lié à la présence de chromophores hautement absorbants (l'excitation et/ou la fluorescence étant absorbée par ces chromophores et entraînant la diminution de l'intensité de fluorescence) ([Muller et al. , 2011](#); [Ammari et al. , 2014](#)). Ainsi, pour les solides de couleur sombre, la forte concentration en structures chimiques absorbantes peut entraîner un signal de fluorescence faible, voir nul ([Muller et al. , 2011](#); [Jouot, 2013](#)) ;
- une "protection" des fluorophores au sein de la matrice, les rendant inaccessibles à l'excitation ([Muller et al. , 2011](#)) ;
- la diffusion Rayleigh peut être bien supérieure au maximum d'intensité de fluorescence, pouvant ainsi masquer le spectre des composés organiques ([Ammari et al. , 2014](#)) ;
- les caractéristiques physiques de la matrice (porosité, densité optique, granulométrie, teneur en eau) ([Matthews et al. , 1996](#); [Chen et al. , 2000](#)).

Les spéléothèmes représentent donc une matrice particulièrement adaptée à la mesure de fluorescence en phase solide du fait de leur faible concentration en matière organique, leur structure cristalline claire et peu absorbante, et de la possibilité d'obtenir une surface lisse et plane par polissage. Ceci explique notamment les nombreux travaux réalisés sur ces archives par comparaison avec les sols et les sédiments.

La fluorescence en phase solide présente l'avantage d'être non-destructive et rapide. Le signal est également amplifié du fait de l'immobilisation partielle de la structure moléculaire en milieu solide. Il existe trois principales méthodes pour mesurer le signal en phase solide dans les spéléothèmes :

- les spectrophotomètres ([Baker et al. , 1998](#)). Couplés avec une sonde à fibre optique, ils utilisent une source Xenon pour d'obtenir des mesures à plusieurs longueurs d'onde d'excitation et enregistrer à la fois l'intensité et les longueurs d'onde d'émission. La résolution spatiale du signal obtenu dépend de la taille et de la focalisation de la fibre optique. Les mesures sont par ailleurs très sensibles à la réflexion spéculaire (figure 4.5) et nécessitent un double-monochromateur ou des filtres.
- les microscopes ([Baker et al. , 1993](#); [Ribes et al. , 2000](#)). Équipés avec une source mercure le plus souvent, ils permettent d'enregistrer une image de fluorescence dépendante des filtres d'excitation utilisés. Ils ne sont cependant pas résolus spectralement. Il existe également des microscopes à double photons qui présentent l'avantage d'être très résolus spatialement.
- la spectrofluorescence induite par excitation laser a d'abord été développée par Y. Shopov ([Shopov et al. , 1994](#)) et J.-L. Destombes ([Perrette et al. , 1997](#)). Une des premières publications utilisant cette technique est l'étude réalisée par [Shopov et al. \(1994\)](#) qui montre un signal d'intensité de fluorescence répondant à un cycle annuel, ainsi que des oscillations à long-terme. Cette technique ne permet cependant qu'une mesure à une longueur d'onde d'émission fixe. Les travaux de [Baker et al. \(1996\)](#); [Perrette \(1997\)](#); [Perrette et al. \(1997, 2000, 2005\)](#) présentent une amélioration de la technique de mesure, permettant alors d'obtenir l'intensité de fluorescence pour une émission multiple, et donc d'enregistrer des spectres de fluorescence, y compris sur les échantillons solides. Ces appareils présentent une énergie plus importante que les spectrophotomètres et permettent ainsi d'augmenter l'intensité du signal et la résolution spectrale de l'émission. La résolution spatiale dépend de la taille du spot laser et peut être très élevée (<20 μm). Cette technique permet de mesurer l'intensité de fluorescence pour une émission fixe ou multiple mais la longueur d'onde d'excitation est toujours fixe.

En dehors des différences induites par les méthodes, les mesures sont influencées par la densité optique, liée entre autre à la cristallisation. Une variation de cette dernière peut entraîner une modification de la réflectance et de la diffusion au sein de l'échantillon (figure 4.5) et par conséquent faire varier le signal d'intensité de fluorescence sans qu'il y

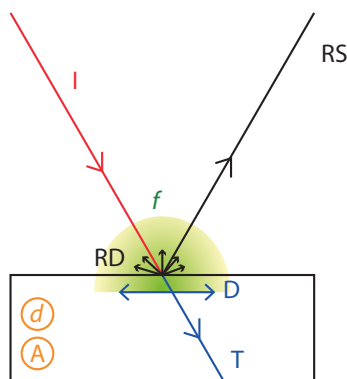


Figure 4.5 – Principaux phénomènes optiques impliqués dans la fluorescence d'un solide. Le milieu est caractérisé par son absorbance et sa densité optique. I = rayon incident ; T = transmission ; D = diffusion ; RS = réflexion spéculaire ; RD = réflexion diffuse ; f = fluorescence ; A = absorbance ; d = densité optique.

ait nécessairement de changement de quantité ou qualité de la matière organique. Pour s'affranchir de ce paramètre, il est possible :

- de travailler avec des échantillons dont la fabrique cristalline reste constante ;
- d'évaluer ou de corriger ces effets de matrice. Pour cela, les mesures de réflectance monochromatique ou polychromatique renseignent sur les changements de porosité. La réflectance est fonction de l'absorption de l'échantillon et de sa densité optique. Un changement d'intensité de la réflectance indique donc une modification de la structure cristalline. La plupart des études ne prennent cependant pas en compte ce paramètre et de futures recherches afin de corriger cet effet de matrice sont nécessaires.

Enfin, le signal de fluorescence est également sensible à la focale (plus ou moins selon les méthodes de mesure). Des changements importants de la surface des échantillons (échantillon non plat, trous) modifient la distance focale et ainsi le signal mesuré. Certains éléments comme les trous ou les fractures peuvent être repérés visuellement. Cependant, il est plus difficile de détecter une variation du niveau de la surface de l'échantillon, pouvant entraîner une tendance croissante ou décroissante de l'intensité de fluorescence mesurée.

Les mesures de fluorescence de la matière organique en phase solide sur les spéléothèmes sont donc très sensibles aux changements de surface et de structure cristalline. Si certains effets sont détectables visuellement, il n'est pas toujours évident de mesurer l'impact de ces paramètres sur le signal de fluorescence. Des mesures de réflectance peuvent aider à l'évaluation ou la correction des effets de matrice, mais restent à développer. Le signal d'intensité est donc à utiliser avec précaution. Les mesures laser, n'offrent pas la

possibilité d'une excitation multiple mais permettent d'obtenir une très bonne résolution avec généralement un bon ratio signal/bruit. Enfin, l'avantage principal de ces techniques est d'être rapides et surtout non destructives. Pour prendre en compte la décroissance de l'intensité de fluorescence, un pas de temps constant lors de la mesure le long de l'axe du spéléothème est nécessaire. Des expériences en laboratoire ont montré que ce phénomène (aussi appelé *photobleaching*) est réversible ([Perrette, données non publiées](#)). Les mesures peuvent être alors répétées au même endroit au bout d'un certain temps.

À retenir :

- Le signal de fluorescence, et principalement les paramètres d'intensité et de longueur d'onde d'émission, offrent respectivement des informations sur la quantité et la qualité de la matière organique.
- Le signal de fluorescence des spéléothèmes est principalement composé du pic A et du pic C correspondant aux molécules de type humiques.
- Les variations de l'intensité et des longueurs d'onde d'émission sont influencées par des variations environnementales (type de végétation, type de sol) et leur réponses aux variations climatiques (humidité, température).
- Les modalités de transport ont un impact important sur le signal de fluorescence qui peut se surimposer aux variations environnementales.
- La mesure du signal de fluorescence en phase solide est rapide et non-destructive mais reste sensible à la matrice cristalline de l'échantillon.

4.2 Méthodologie de la mesure de fluorescence en phase solide

4.2.1 Principe de mesure et montage expérimental

Les mesures de fluorescence solide présentées dans cette thèse ont été effectuées à l'aide d'un spectrofluorimètre dont la conception et le montage ont été réalisés par Yves Perrette au laboratoire EDYTEM (figure 4.10). La fluorescence de l'échantillon obtenue par excitation par laser (monochromatique) est analysée par un monochromateur permettant une détection simultanée d'une grande gamme de longueurs d'ondes. Cet appareil est composé de deux sources d'excitation lumineuses distinctes, correspondant à deux lasers utilisés séparément :

- un laser Nd-YAG pulsé avec une longueur d'onde d'excitation de 1064 nm qui est triplé afin d'obtenir une excitation à 266 nm (puissance 10 mW).
- un laser He :Cd avec une longueur d'onde d'excitation de 325 nm (puissance 30 mW).

L'excitation laser passe par un filtre interférentiel à la sortie des lasers afin 1) de supprimer les excitations parasites et ne conserver que l'excitation monochromatique et 2) de couper les différents ordres du laser (cas du laser à 266 nm).

La lumière est ensuite réfléchi sur un miroir et focalisée sur l'échantillon à l'aide d'une lentille pour augmenter à la fois l'intensité et la résolution spatiale de la mesure. Dans ce montage : la source présente une incidence de 45° par rapport à l'échantillon et la réponse est mesurée à la verticale de l'échantillon. Ce montage permet de limiter la réflexion spéculaire dans le champ de mesure, qui est très importante dans le cas des échantillons de stalagmites polis, afin d'éviter "l'éblouissement" de la détection. L'angle d'incidence accroît la sensibilité de la mesure à la distance focale. La zone de "bonne" focale est en effet de l'ordre de 50 à 100 μm et un décalage de la surface de l'échantillon par rapport à la distance focale entraîne un éloignement des points d'observation et d'excitation, qui doivent être confondus. Une attention particulière est donc portée à la l'horizontalité de la surface mesurée.

Les photons émis par l'échantillon en réponse à l'excitation du laser sont ensuite dispersés à l'aide d'une lentille sur la fente d'entrée du monochromateur. La lentille est placée de manière à obtenir un montage 2f-2f (grossissement de 1 :1). Le monochromateur est un monochromateur (Jobin Yvon MicroHr) dans lequel les différentes longueurs d'onde sont analysées sur un réseau (300 trait/mm, blazé à 500 nm) centré à 600 nm, permettant de cibler les longueurs d'onde d'émission de 300 à 900 nm. Les fentes du monochromateur sont réglables manuellement. Une faible ouverture diminue la quantité de signal entrant mais augmente la résolution spectrale. Elle augmente également la résolution spatiale de la mesure puisque l'ouverture correspond à la surface mesurée sur l'échantillon. Le signal

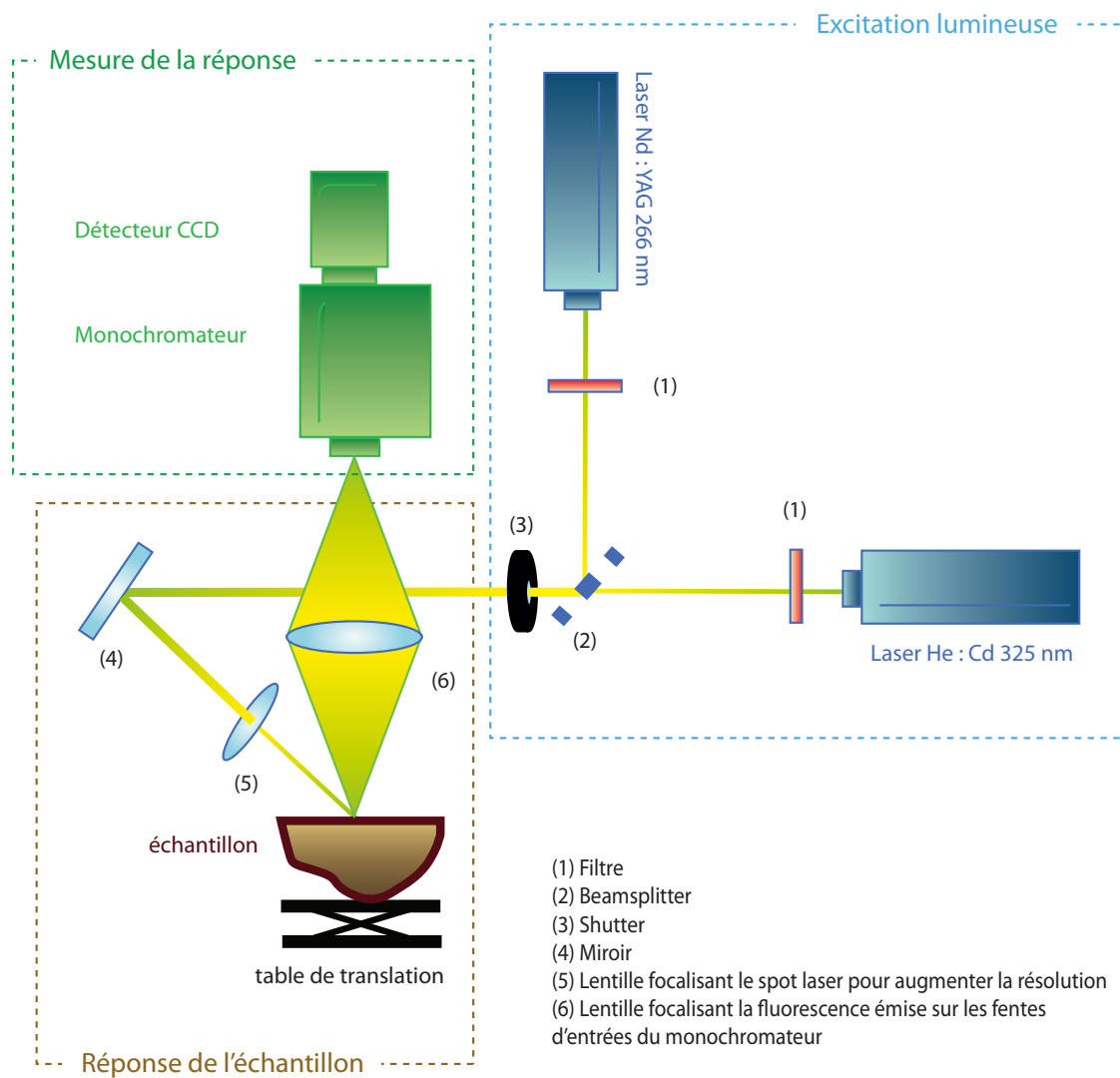


Figure 4.6 – Schéma du montage du MUESLI (Muesli Uses Emission Spectrofluorescence for Line scanning and Imaging) composé de deux sources d'excitation lumineuses focalisées sur l'échantillon. La réponse de l'échantillon est focalisée dans un monochromateur ou la lumière est diffractée et lue ensuite par un CCD.

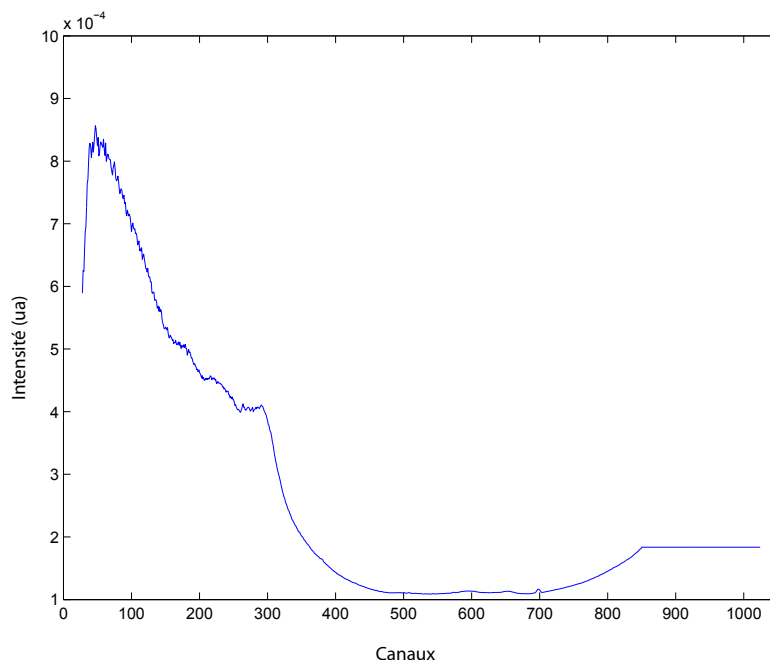


Figure 4.7 – Correction du rendement du CCD appliquée aux spectres d'émission mesurés.

est ensuite enregistré par un CCD (Charge Coupled Device) rétro-éclairé optimisé pour la détection dans le domaine de l'UV (jusqu'à 300 nm).

Le banc (XY) de déplacement sur lequel est placé l'échantillon permet de le déplacer dans deux directions, et ainsi d'obtenir des images de fluorescence. Une première table de translation permet un déplacement de 300 mm (axe des X). Une seconde table de translation permet un déplacement de 25 mm dans la direction perpendiculaire à la première (axe des Y). Les mesures sont réalisées en continu le long de l'axe des X et la taille du pixel dépend de la vitesse de déplacement. Plus la vitesse est grande, et plus le pixel correspondra à une zone réduite sur l'échantillon. Les images sont obtenues en compilant plusieurs lignes de mesures le long de l'axe des Y. Le pas de déplacement en X, comme en Y, est défini au début de la mesure selon l'information recherchée. Il correspond dans cette thèse à un pas de $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ qui est un compromis entre la résolution de la mesure et le temps de mesure. La taille du spot laser une fois focalisée a été mesurée et est inférieure à $20\ \mu\text{m}$ pour le laser YAG à 266 nm, et à $30\ \mu\text{m}$ pour le laser à He :Cd.

Une correction du rendement du CCD selon les longueurs d'onde (figure 4.7) est obtenue en mesurant le signal d'une lampe Hg :Qz et en multipliant le spectre d'émission théorique par le spectre d'émission obtenu. Les spectres d'émission sont directement divisés par cette correction. Un *background* est enregistré avant chaque déplacement de

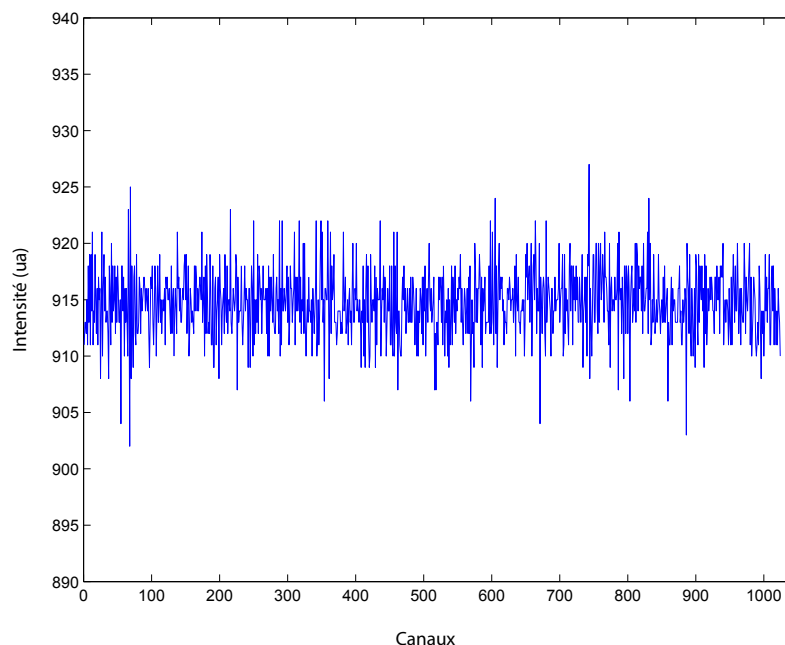


Figure 4.8 – Exemple d'un background enregistré avant mesure. Les intensités varient très peu le long des canaux.

mesure en X (Fig. 4.8). Ce signal est soustrait au spectre d'émission après correction de l'efficacité du CCD.

4.2.2 Traitement des données

Les données de fluorescence enregistrées sur le banc de mesures sont exportées pour être traitées dans le terminal de commande et dans le logiciel Matlab. Elles se présentent sous la forme d'un fichier par ligne de mesure. Chaque ligne de ce fichier contient un spectre d'émission (1024 points). Ces fichiers doivent être concaténés pour obtenir une image. Il est également possible de récupérer les fichiers de blanc et de correction.

Pour obtenir les paramètres d'intensité et de longueur d'onde, chaque spectre d'émission doit être traité un à un. Une première méthode consiste à noter l'intensité maximale du pic de fluorescence et la longueur d'onde d'émission à cette hauteur maximale. Cependant, le signal de fluorescence de la matière organique est généralement constitué d'une association de plusieurs fluorophores. Les fluorophores ne présentent pas toujours des pics distincts, et l'interaction entre ces derniers peut entraîner une modification de leurs paramètres d'intensité et de longueur d'onde. La méthode citée précédemment ne prend pas

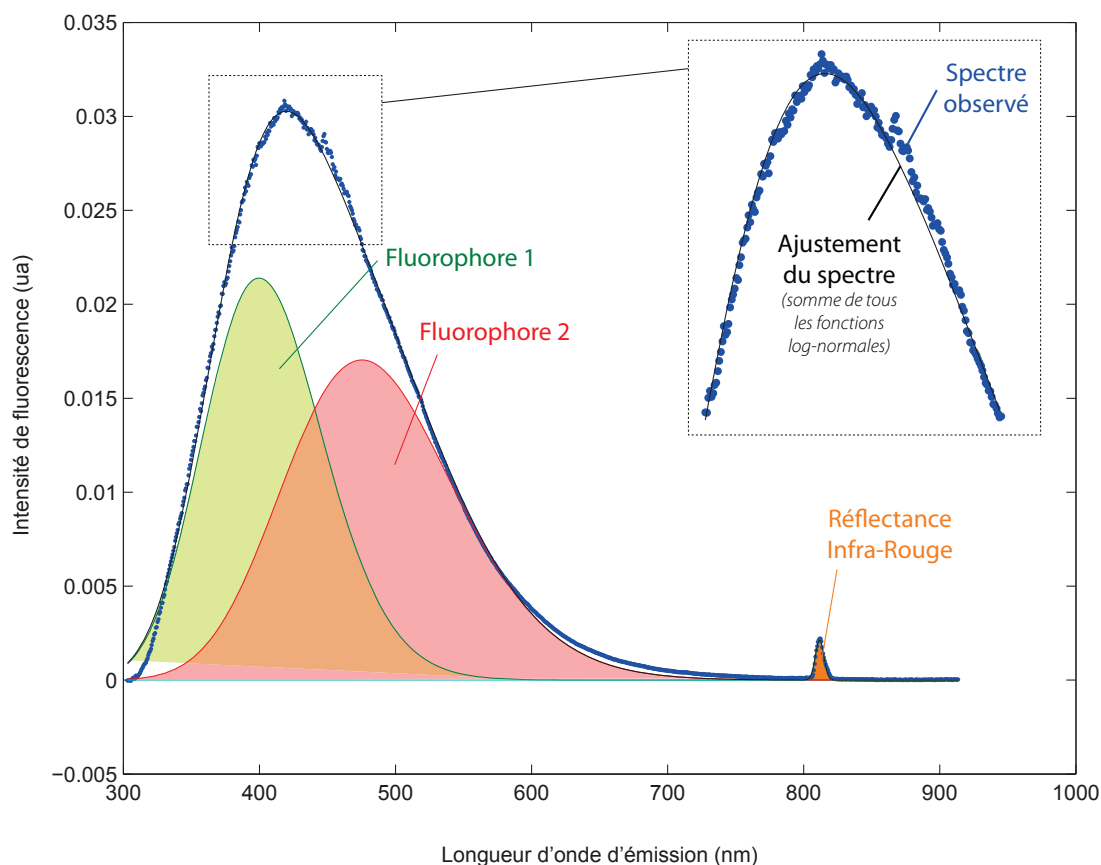


Figure 4.9 – Exemple d'un ajustement de spectre à partir du spectre d'émission moyen à 266 nm mesuré sur l'échantillon **Renella**. Les courbes colorées correspondent aux fonctions log-normales (fluorophores et réflectance infra-rouge dans ce cas). Leur somme permet d'obtenir le spectre simulé (courbe noire) qui doit correspondre au spectre observé (points bleus).

en compte ces interactions, et pour s'en affranchir les données ont été traitées dans cette étude par une technique de simulation des spectres.

Cette méthode d'ajustement consiste en une somme des fluorophores afin de déterminer mathématiquement l'association de fluorophores produisant le spectre total de fluorescence (voir figure 4.9). Pour cela, chaque fluorophore est simulé à l'aide de fonctions log-normales, s'approchant du spectre d'émission d'un fluorophore simple isolé. Cette technique permet également de simuler les effets Raman et Rayleigh. Ce sont des phénomènes de diffusion de la lumière, respectivement inélastique et élastique, dus à l'interaction avec le milieu. Ils sont simulés par des fonctions log-normales par souci de simplicité du traitement. La somme de toutes les fonctions (fluorophores et diffusions) doit produire un spectre simulé le plus proche possible du spectre observé. L'ajustement du spectre simulé au spectre observé est

semi-contraint. C'est-à-dire que le nombre de fonctions, les 3 paramètres les caractérisant (aire, largeur et centre), ainsi que les limites de variations inférieures et supérieures de ces paramètres sont définis avant ajustement. La procédure est ensuite effectuée avec une méthode des moindres carrés, en faisant varier les paramètres des fonctions log-normales dans les intervalles limites prédéfinis.

Cette simulation est réalisée dans un premier temps sur le spectre moyen de l'échantillon, afin de définir au mieux les paramètres et leurs contraintes. Il est ensuite appliqué en routine à chacun des spectres de l'enregistrement. Une modification importante du signal le long de l'échantillon peut entraîner un mauvais ajustement sur certaines parties de l'échantillon. Une carte du coefficient de corrélation entre le spectre simulé ajusté et le spectre observé est produite pour vérifier que l'ajustement est correct sur la totalité de l'échantillon. Si ce n'est pas le cas, les paramètres et contraintes sont modifiés à nouveau pour améliorer l'ajustement. Étant donné le très grand nombre de spectres à traiter (plus de 10 000), ces derniers ont été rééchantillonnés et les données d'une longueur d'onde sur trois ont été conservées. De plus, un traitement en parallèle a été effectué pour améliorer la vitesse de traitement des données.

Les simulations sont réalisées séparément pour les deux longueurs d'onde d'excitation (266 et 325 nm). Pour chaque spectre, l'aire et le centre de chacun des fluorophores après simulation sont enregistrés. Ils renseignent respectivement sur l'intensité et la longueur d'onde d'émission des fluorophores. Ce traitement des données permet donc d'obtenir, pour chaque longueur d'onde d'excitation :

- l'intensité de chaque fluorophore, correspondant à l'aire de la fonction log-normale ;
- l'intensité totale du signal de fluorescence, correspondant à la somme des aires des fonctions log-normales représentant des fluorophores (sans les diffusions Rayleigh et Raman) ;
- les longueurs d'onde d'émission de chaque fluorophore, correspondant aux centres des fonctions log-normales ;
- des ratios de qualité (ratios entre les aires des fluorophores), qui représentent les variations de proportions des différents type de matière organique.

À partir de ces paramètres, il est donc possible de reconstituer des cartes de variation d'intensité, ou des longueurs d'émission, pour tous ou chacun des fluorophores, permettant une vision spatiale des variations de fluorescence dans l'échantillon. Les variations de fluorescence (intensité ou longueur d'onde d'émission) le long de l'échantillon présentées par la suite correspondent à des moyennes des paramètres de simulation, par ligne de mesure (axe des Y). Ceci permet d'éviter les effets de grains pouvant être occasionnés par un défaut localisé de la calcite (trou, fissure) ou par une zone très hétérogène en matière organique, et d'évaluer une incertitude.

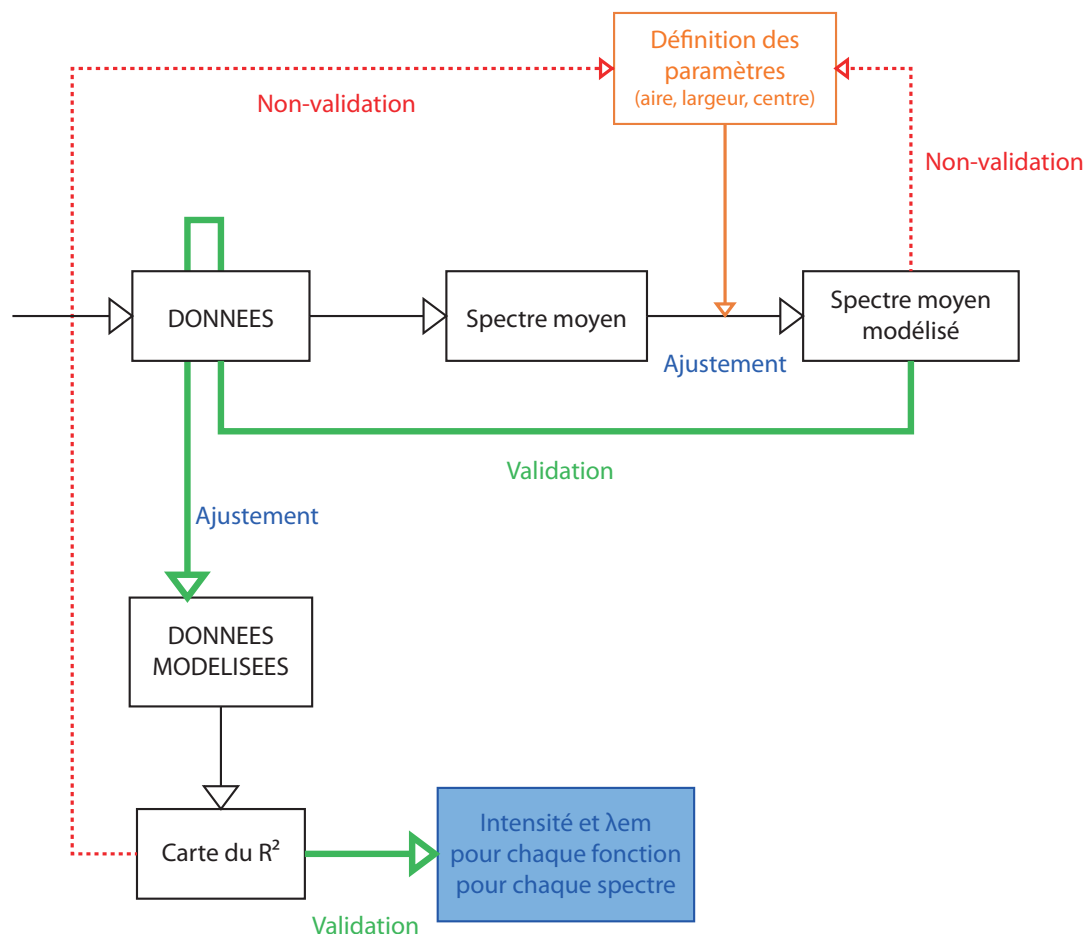


Figure 4.10 – Schéma synthétisant les différentes étapes du traitement des données de fluorescence en phase solide.

Par ailleurs, à une excitation de 266 nm, le pic d'émission à environ 809 nm correspond à une réflectance infra-rouge (réflectance IR). Ce pic correspond à l'émission de la diode qui excite le cristal émettant le laser, et qui atteint l'échantillon. La matière organique ne présente pas d'émission de fluorescence autour de cette longueur d'onde d'émission ([van Beynen et al. , 2001](#)) et cette émission correspond à la lumière réfléchiée par l'échantillon. Elle est fonction de la densité optique de la calcite. Elle peut donc être utilisée pour détecter les changements de structure cristalline et évaluer l'effet de matrice, et éventuellement pour le corriger.

4.3 Développement méthodologique : la quantification du signal de fluorescence

4.3.1 Résumé étendu : [Quiers et al. \(2015\)](#)

[Blyth et al. \(2008\)](#) et [Fairchild & Baker \(2012\)](#) dans leurs reviews soulignent le caractère semi-quantitatif de la mesure d'intensité de fluorescence de la matière organique, et le potentiel d'une quantification de ce signal pour retracer les flux de carbone. Dans le cadre actuel du changement climatique, le couplage des flux de carbone avec l'information paléoclimatique et paléoenvironnementale, permettrait d'identifier les facteurs clés qui limitent ou favorisent l'exportation du carbone. Si la relation entre le signal de fluorescence et le COT a été utilisée dans plusieurs études afin d'estimer les variations de concentrations en carbone organique, ce n'est pas le cas des spéléothèmes. Les faibles quantités de carbone organique contenu dans les spéléothèmes (quelques mg/g de calcite) nécessitent des quantités de matériel importantes nécessaires pour pouvoir être mesurées ce qui explique le peu d'études réalisées. Les quantités importantes de matériel importantes diminuent la résolution temporelle des résultats ([Blyth et al. , 2013](#); [Li et al. , 2014](#)) et limitent ainsi l'intérêt pour l'utilisation en paléoenvironnement. La calibration du signal de fluorescence en quantité est donc difficile à mettre en oeuvre.

Dans le cadre de cette thèse, une méthode de quantification du signal de fluorescence des spéléothèmes a été développée. Elle est basée sur l'hypothèse d'une source pédologique de la matière organique, la source *in situ* étant considérée comme secondaire. La méthode développée vise donc à s'appuyer sur la relation entre la fluorescence de la matière organique et le COT existant dans les sols, pour exprimer le signal de fluorescence des spéléothèmes de manière quantitative. Ce travail a été publié dans la revue Chemical Geology ([Quiers et al. , 2015](#)) (Annexe 1, page 249).

Trois échantillons de spéléothèmes des Préalpes françaises (description dans l'annexe 1, page 249) ont été choisis pour ce travail expérimental (figure 4.11) :

- l'échantillon **GC-x** correspond à la partie externe du pied de la stalagmite **GC-09A** prélevée dans le réseau Garde-Cavale (Massif des Bauges)
- l'échantillon **Ferme-x** est une petite stalagmite (6 cm) active au moment du prélèvement et provenant du système des Fermes, proche du réseau Garde-Cavale. Elle est caractérisée par un impact anthropique important puisqu'elle était située sous une exploitation agricole (exploitation laitière).
- l'échantillon **TAM-x** prélevé dans le massif du Vercors, et très marqué par l'activité de charbonnage en surface.

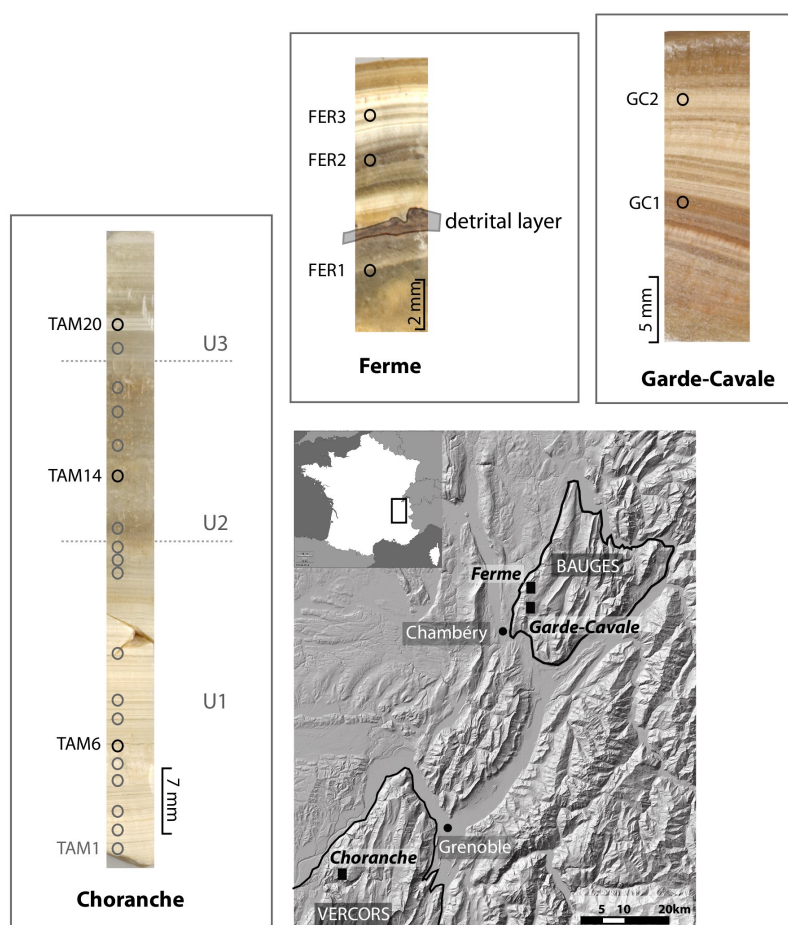


Figure 4.11 – Stalagmites utilisées pour le développement de la méthode de quantification de la mesure de fluorescence en phase solide. Les cercles représentent les zones des différents prélèvements réalisés. Une carte de localisation des systèmes karstiques d'où proviennent ces échantillons est également présentée. [Quiers et al. , 2015](#)

Les échantillons de sol utilisés pour établir la relation COT-fluorescence des spéléothèmes correspondent à 5 sols (et végétation) représentatifs des environnements de moyenne montagne calcaire. Ainsi des brunisols, leptosols et un podzol ont été prélevés sous des forêts mixtes, une lande à *Ericacées*, et des prairies alpines et pâturées, dans l'hypothèse où le signal de fluorescence différerait selon les associations sol-végétation. Ces sols sont également décrits dans le tableau 4.1 (description plus en détail dans l'annexe 1, page 249).

Tableau 4.1 – Caractéristiques des sols prélevées dans le Massif des Bauges et dans le Massif du Vercors.

Sample	Soil type	Vegetation cover	Massif	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Org. C (g/kg)	pH _{H2O}	C/N	TOC _{WEOM} (mg/L)
Bau1	Podzol	Heath	Bauges	N45°38'56.1"	E5°59'29.6"	1306	328	4.2	19.9	95.1
Bau2	Cambisol	Grassland	Bauges	N45°38'34.0"	E5°59'10.5"	1307	89	5.8	19.1	85.2
Bau3	Folic Leptosol	Alpine grassland	Bauges	N45°37'45.1"	E6°02'42.1"	1701	333	5.1	19.5	93.7
Bau4	Eutric Cambisol	Pastured grassland	Bauges	N45°40'20.7"	E5°58'30.2"	1486	108	6.6	10.1	174.1
Cou1	Cambisol	Mixed forest	Vercors	N45°07'43.5"	E5°26'09.8"	1300	55	5.9	14.3	135.7

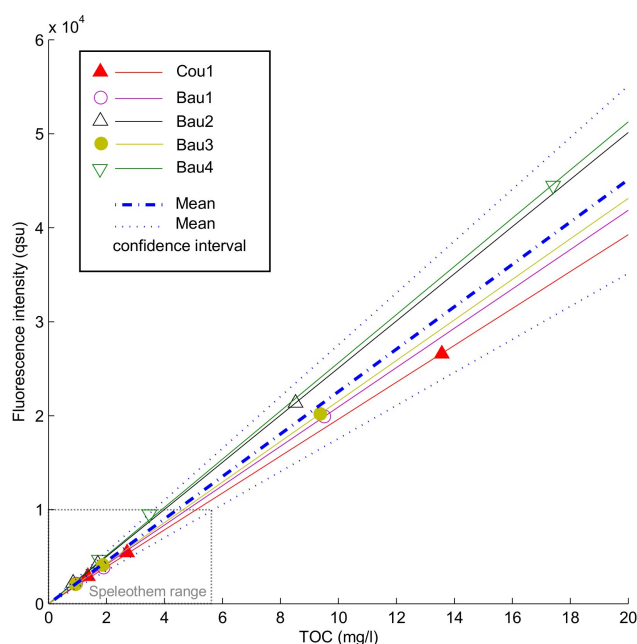


Figure 4.12 – Relation entre l'intensité de fluorescence des extraits à l'eau (QSU) et la quantité de carbone organique total (mg/L) des échantillons de sols. Chaque point correspond à une dilution différente des extraits de sol. La relation moyenne et l'intervalle de confiance associé ont été calculés en utilisant la méthode de rééchantillonnage de Monte Carlo. [Quiers et al. , 2015](#)

La matière organique des sols a été extraite à l'eau et filtrée à $0,45 \mu\text{m}$ (voir dans l'annexe 1, page 249 pour le détail de la méthode). Les échantillons de stalagmites ont été nettoyés à l'HCl 1N avant extraction pour supprimer les contaminations de surface. Des échantillons de 5 à 6 mg de calcite ont été prélevés et dissous dans 4 mL d'HCl 12N . 40 μL d'HCl 3N sont ajoutés pour compléter la dissolution. Cette procédure a été développée pour minimiser le temps d'exposition de la matière organique à un pH faible et limiter ainsi les changements de conformation de la matière organique. L'intérêt de cette méthode d'extraction est la très faible quantité de matériel nécessaire, permettant d'obtenir une résolution temporelle importante. Les extraits d'eau et de sol ont été analysés en fluorescence liquide (paramètres analytiques décrits dans l'article). Avant extraction, des mesures de fluorescence en phase solide ont été réalisées sur les spéléothèmes. Les paramètres analytiques sont décrits dans l'annexe 1 (page 249) et correspondent également à ceux utilisés pour les échantillons de Garde-Cavale.

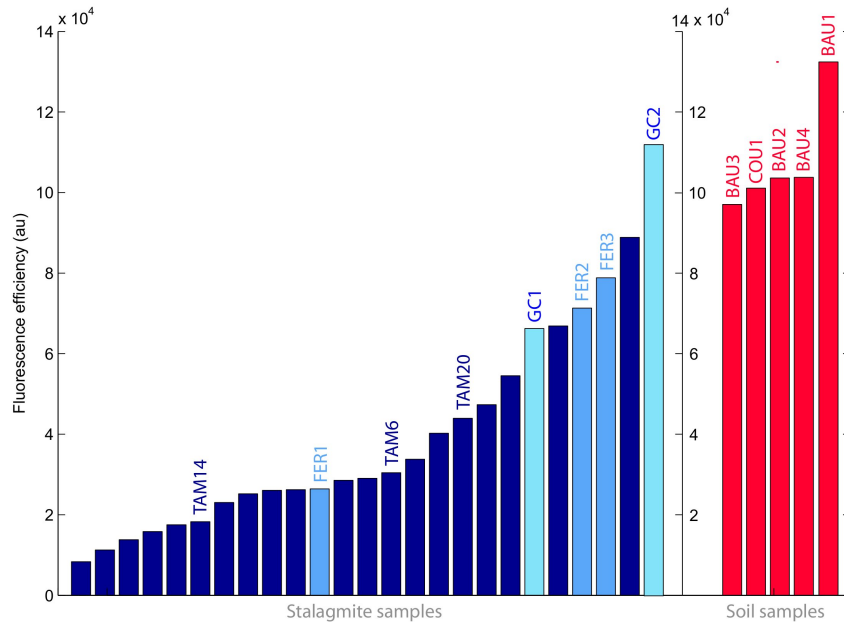


Figure 4.13 – Fluorescence efficaces (ua) des échantillons de sol (rouge) et des stalagmites (bleu), incluant les échantillons **TAM-x** prélevés avec un pas de 2 mm. [Quiers et al. , 2015](#)

La première étape de la quantification du signal utilise la relation COT-fluorescence établie pour les sols. Cette relation est présentée dans la figure 4.12 (figure 2 de l'article). La comparaison de la fluorescence efficace (maximum d'intensité de fluorescence/absorbance à la même longueur d'onde) des différents extraits de sols montre que ces derniers ne présentent pas de différences significatives en termes de qualité de la matière organique, sauf pour le podzol (p-value = 0,72 pour l'ANOVA ; figure 4.13 ou figure 3 dans l'article). Une relation moyenne COT-fluorescence de ces sols a donc été utilisée. Elle a été estimée avec la méthode de Monte Carlo afin de prendre en compte les incertitudes de ces relations liées à la variabilité des sols.

Cette relation moyenne a ensuite été utilisée pour exprimer le signal de fluorescence des spéléothèmes. Pour réaliser cette étape, la fluorescence des échantillons de calcite a été mesurée en phase liquide. À partir des mesures d'intensité de ces derniers, la concentration en carbone organique des spéléothèmes a été estimée en utilisant la relation moyenne COT-fluorescence des sols. Les résultats obtenus montrent des concentrations entre 0.27 et 3.04 mg/g de calcite (tableau 4.2 ou tableau 2 dans l'article). Ils sont en accord avec les différents échantillons analysés et correspondent aux concentrations retrouvées dans la littérature.

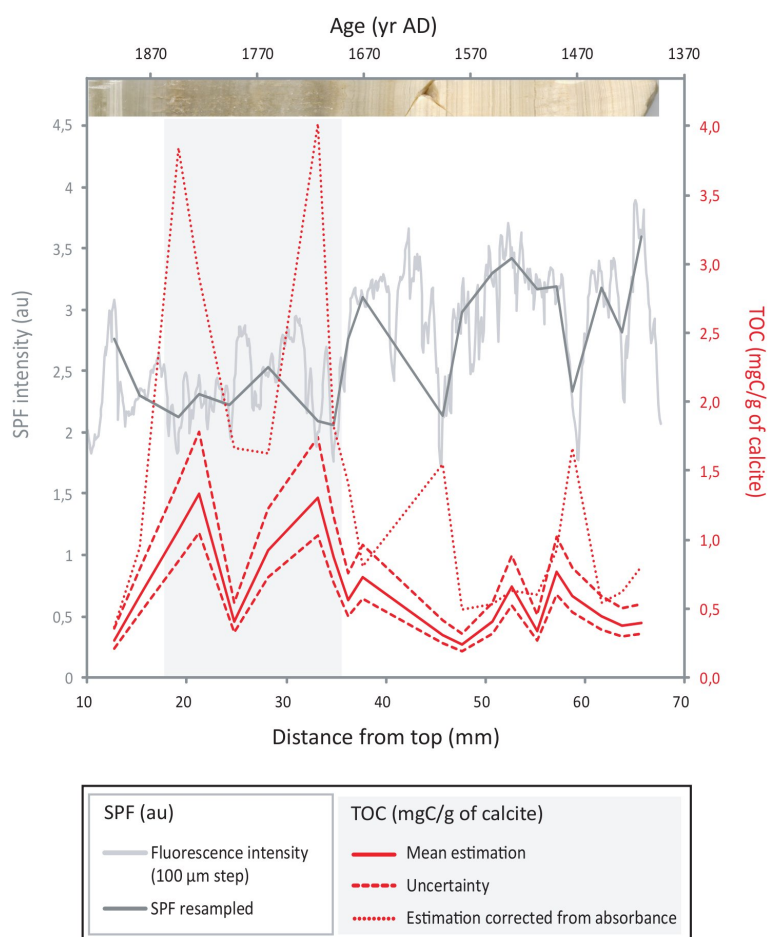


Figure 4.14 – Relation entre les estimations de COT (mg C/g calcite) et les intensité de fluorescence en phase solide au cours du temps pour la stalagmite **TAM**. Les échantillons ont été prélevés avec un pas de 2 mm. Les courbes représentent les estimations moyennes de COT (rouge), les incertitudes sur ces estimations (tirets rouges), et les estimations de COT corrigées de l'absorbance (pointillés rouges). Pour pouvoir être comparée aux estimations, la mesure de fluorescence en phase solide (courbe gris clair) a été rééchantillonnée (courbe gris foncé). La zone stratigraphique U2 (calcite poreuse avec de nombreuses inclusions) est délimitée par la zone grise. [Quiers et al. , 2015](#)

Tableau 4.2 – Concentrations en carbone organique (mg C/g calcite) dans les échantillons de stalagmites estimées à partir de la fluorescence spécifique des sols. Ces concentrations ont été estimées à partir de la relation linéaire moyenne entre l'intensité de fluorescence des sols et leur concentration en COT et à partir des incertitudes sur ces relations.

Estimated concentrations (mg C/g calcite) and uncertainties				
Sample	Lower	Mean	Higher	CV% (mean value)
<i>GC1</i>	1 .87	2 .37	3 .16	17.3
<i>GC2</i>	2 .39	3 .03	4 .04	
<i>FER1</i>	1 .03	1 .31	1 .75	35
<i>FER2</i>	2 .09	2 .65	3 .54	
<i>FER3</i>	2 .08	2 .64	3 .51	
<i>TAM6</i>	0 .27	0 .34	0 .45	90.1
<i>TAM14</i>	1 .03	1 .31	1 .74	
<i>TAM20</i>	0 .21	0 .27	0 .35	

Afin d'utiliser cette relation pour estimer les concentrations en carbone organique à partir des mesures de fluorescence en phase solide, la stalagmite **TAM-x** a été échantillonnée à un pas de 2 mm (20 échantillons) du fait de sa croissance régulière. Les mesures de fluorescence en phase liquide ont permis d'estimer des concentrations en carbone organique (entre 0,24 et 1,34 mg C/g de calcite) présentées dans la figure 4 de l'article (figure 4.14). Le signal de fluorescence en phase solide de cet échantillon, rééchantillonné au pas d'analyse de la fluorescence liquide, n'est pas corrélé aux concentrations estimées ($R^2=0,23$, $n=20$, $p<0,05$) malgré leur cohérence globale avec les unités stratigraphiques de la stalagmite.

La relation entre l'absorbance et la fluorescence est significativement différente selon les échantillons et généralement inférieure à celle des sols (figure 4.15 ou figure 5 dans l'article). Les pentes les plus faibles (en vert sur la figure 4.15) sont également associées à l'unité stratigraphique (U2) de l'échantillon présentant une plus forte porosité et plus d'inclusions (tableau 4.3). Ces différences de relations pourraient avoir entraîné une sous-estimation du COT de cette unité. Les estimations ont donc été réalisées à nouveau en corrigeant les valeurs de fluorescence des différences de fluorescence efficace. Les nouvelles estimations obtenues sont similaires aux précédentes pour les zones U1 et U2 mais bien supérieures pour la zone U2. La relation entre les nouvelles estimations de COT et la fluorescence en phase solide est meilleure mais n'est toujours pas statistiquement corrélée ($R^2=0,52$, $n=20$, $p<0,05$, figure 4.14). Ces résultats indiquent que cette absence de relation n'est pas uniquement due aux facteurs affectant l'estimation du COT mais peut également être le résultat d'une variation de la densité optique de la calcite.

Tableau 4.3 – Degré de porosité de la calcite (0 = nulle à +++ = élevée) et les concentrations en carbone organiques (mg C/g calcite) prédites avec le modèle non linéaire des 20 échantillons prélevés sur la stalagmite **TAM** (un pas de 2 mm).

Sample	Mass (g)	Porosity	Inclusions	C predicted (mgC/gcalcite)
1	6.4	+	+	0.30
2	6.1	+	+	0.36
3	7	+	+	0.39
4	6.6	+++	++	0.32
5	5.4	++	++	0.35
6	6.2	+	+	0.57
7	6.5	+	+	0.45
8	6.5	+	+	0.39
9	6.7	+	++	0.41
10	6.8	++	++	0.47
11	6.5	+	+	0.68
12	6.6	++	+	0.71
13	6	+++	+++	0.92
14	5.9	+++	+++	0.97
15	5.7	+++	+++	0.82
16	6.1	+++	+++	1.15
17	6.1	+++	+++	1.31
18	6.4	+++	+++	1.25
19	3.2	0	0	1.82
20	6.5	0	0	1.11

Pour s'affranchir de cet effet, un modèle non linéaire utilisant comme variables explicatives l'intensité de fluorescence et la réflectance infra-rouge, a été utilisé. La mesure de réflectance infra-rouge correspond ici à une mesure de la densité optique de la calcite. Après suppression de certains échantillons (voir annexe 1, page 249), les estimations réalisées avec le modèle (équation dans l'annexe 1, page 249) montrent une corrélation avec la fluorescence en phase solide (figure 4.16 ou figure 6 dans l'article ; $R^2=0,81$, $n=15$, $p<0,05$).

Ce modèle a été utilisé pour prédire une carte haute résolution de concentration en carbone organique de la stalagmite à partir d'une carte d'intensité de fluorescence (figure 4.17 ou figure 7 dans l'article). Les résultats indiquent un changement à partir de 1700 AD : les quantités de carbone exportées vers le spéléothèmes augmentent, de même que la quantité de charbons dans la matrice cristalline. Cette rupture est associée à un changement de l'utilisation des sols sur le plateau, principalement attribué au développement du charbonnage. La diminution des taux de carbone et d'inclusions de charbon ne diminue pas avant 1910 AD, ce qui est en accord avec le déclin du charbonnage dans la région.

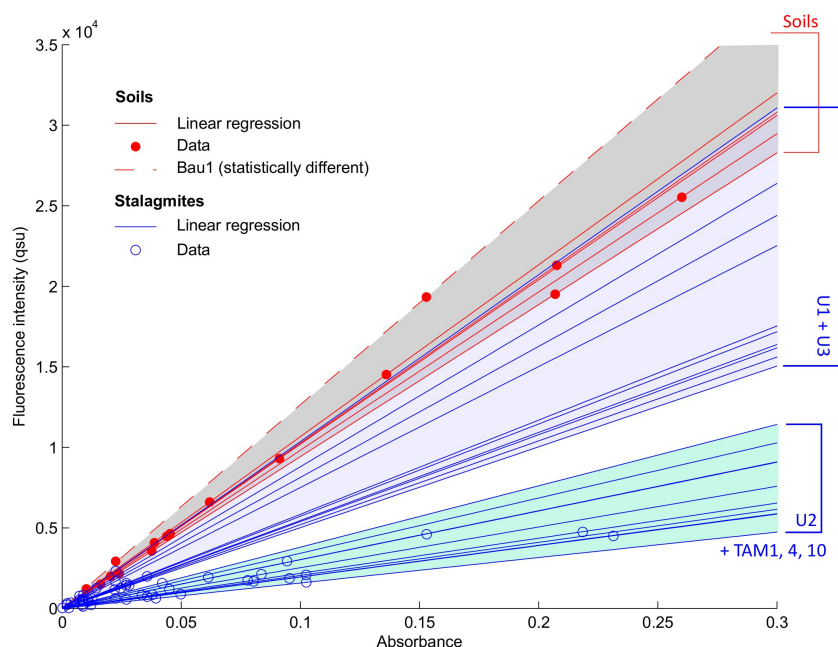


Figure 4.15 – Relation entre l'intensité de fluorescence (QSU) et l'absorbance pour les extraits de sols (courbes rouges) et les extraits de spéléothèmes (courbes bleues). L'échantillon Bau1 (podzol), statistiquement différent des autres, est décrit par une courbe pointillée rouge. [Quiers et al. , 2015](#)

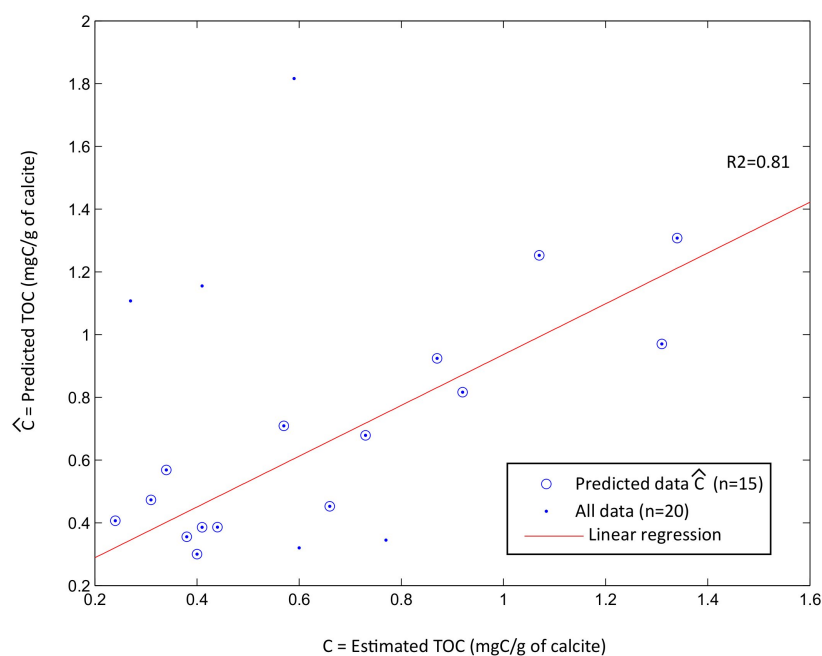


Figure 4.16 – Relation ($R^2 = 0,81$) entre le COT estimé et le COT prédit (mg C/g calcite) à partir du modèle non linéaire (paramètres de l'équation : $a = 1,37 \times 10^{-3}$; $b = 1,16 \times 10^{-5}$; $c = -3,22$; $d = 0,12$). [Quiers et al. , 2015](#)

La méthode développée dans cette thèse permet de prédire les concentrations en carbone à partir du signal de fluorescence des spéléothèmes. La calibration permettant cette quantification nécessite seulement 5 mg de calcite et permet donc un travail à haute résolution. L'utilisation de la réflectance IR permet de s'affranchir de l'influence de la matrice calcaire et d'obtenir des cartographies de concentration en carbone organique haute résolution à partir des mesures de fluorescence en phase solide.

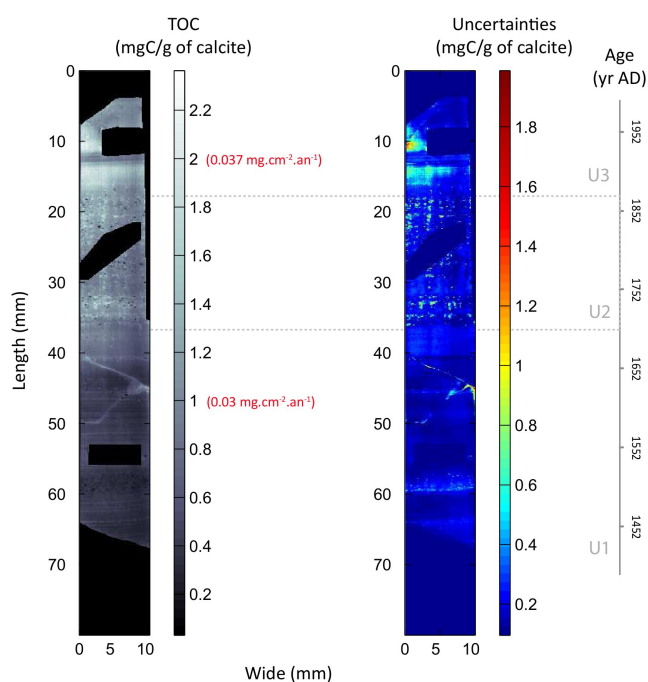


Figure 4.17 – Carte des concentrations en COT prédites (mg C/g calcite) à partir du modèle non linéaire (carte de gauche) et des incertitudes associées à la prédiction (carte de droite). Les zones noire et bleu sombre sur ces cartes indiquent les zones de la stalagmite (ou hors stalagmite) qui n'ont pas été incluses dans le modèle et qui ont donc été retirées des résultats. [Quiers et al. , 2015](#)

4.3.2 Résultats méthodologiques

4.3.2.1 Mesures réalisées

Les mesures de fluorescence en phase solide ont été réalisées sur les 3 plus récents spéléothèmes du réseau Garde-Cavale (**GC-09B**, **GC-13A**, **GC-13B**) à 266 et 325 nm d'excitation avec un pas de 100 μm x 100 μm . Du fait d'un problème technique lors de la mesure, les données mesurées à 325 nm d'excitation sur l'échantillon **GC-09B** ne sont pas exploitables. Les caractéristiques de ces mesures (longueur, largeur des scans) pour chacun des spéléothèmes sont résumées dans le tableau 4.4. Le laser à 325 nm du laboratoire EDY-

TEM ne fonctionnant plus, ces mesures ont été réalisées avec un laser He :Cd de même excitation mis à disposition par l'Ecole Nationale Supérieure des Arts et Métiers (ENSAM). Pour ces raisons matérielles, les résultats présentés dans cette thèse ne correspondent qu'à une faible surface des échantillons (quelques mm), une cartographie complète nécessitant plus de temps.

Tableau 4.4 – Tableau des caractéristiques des mesures utilisées dans ce manuscrit et réalisées sur 3 spéléothèmes du réseau Garde-Cavale (**GC09B**, **GC13A** et **GC13B**).

Echantillon	Excitation (nm)	Résolution ($\mu\text{m} \times \mu\text{m}$)	Longueur (mm)	Largeur (mm)	Fente
GC09B	266	100x100	240	20	0,5
GC13A	266	100x100	134	5	0,5
	325	100x100	134	5	0,5
GC13B	266	100x100	80	3	0,5
	325	100x100	80	3	0,5

4.3.2.2 Qualité de l'ajustement des spectres

Les données obtenues ont été traitées avec la méthode de simulation des spectres présentée précédemment (cf 4.2.2). Afin d'optimiser les paramètres d'ajustement, un spectre moyen a été réalisé. La figure 4.18 présente les ajustements des spectres moyens à 266 et 325 nm d'excitation pour chacun des spéléothèmes. Pour vérifier la qualité des ajustements, le coefficient de corrélation de Bravais-Pearson R entre les spectres mesurés et les spectres simulés a été calculé. Les résultats, présentés dans le tableau 4.5, montrent une corrélation toujours supérieure à 0,98 ce qui permet de valider les simulations. Les paramètres utilisés pour ces dernières ont donc été appliqués à tous les spectres. Ces paramètres sont présentés dans l'annexe 2 (page 258).

Une fois l'ajustement réalisé sur chaque spectre, il faut vérifier sa validité à l'échelle de l'échantillon. En effet, les spectres d'émission peuvent être modifiés sensiblement si la qualité du matériel organique change le long de l'échantillon. L'ajustement semi-contraint utilisé ici ne peut pas s'adapter à une variabilité trop forte de la forme des spectres. Le coefficient de corrélation entre le spectre mesuré et le spectre simulé a donc été calculé pour chaque point de mesure. Ceci permet d'obtenir une carte des coefficients de corrélation sur toute la surface mesurée des spéléothèmes. Ces cartes sont présentées dans la figure 4.19.

Tableau 4.5 – Corrélation (R et p-value des R) entre spectres moyens mesurés et spectres moyens simulés pour les 3 spéléothèmes analysés.

Echantillon	Excitation (nm)	R	p-value
GC-09B	266	0,9993	0
GC-13A	266	0,9994	0
	325	0,9949	0
GC-13B	266	0,9995	0
	325	0,9839	0

GARDE-CAVALE

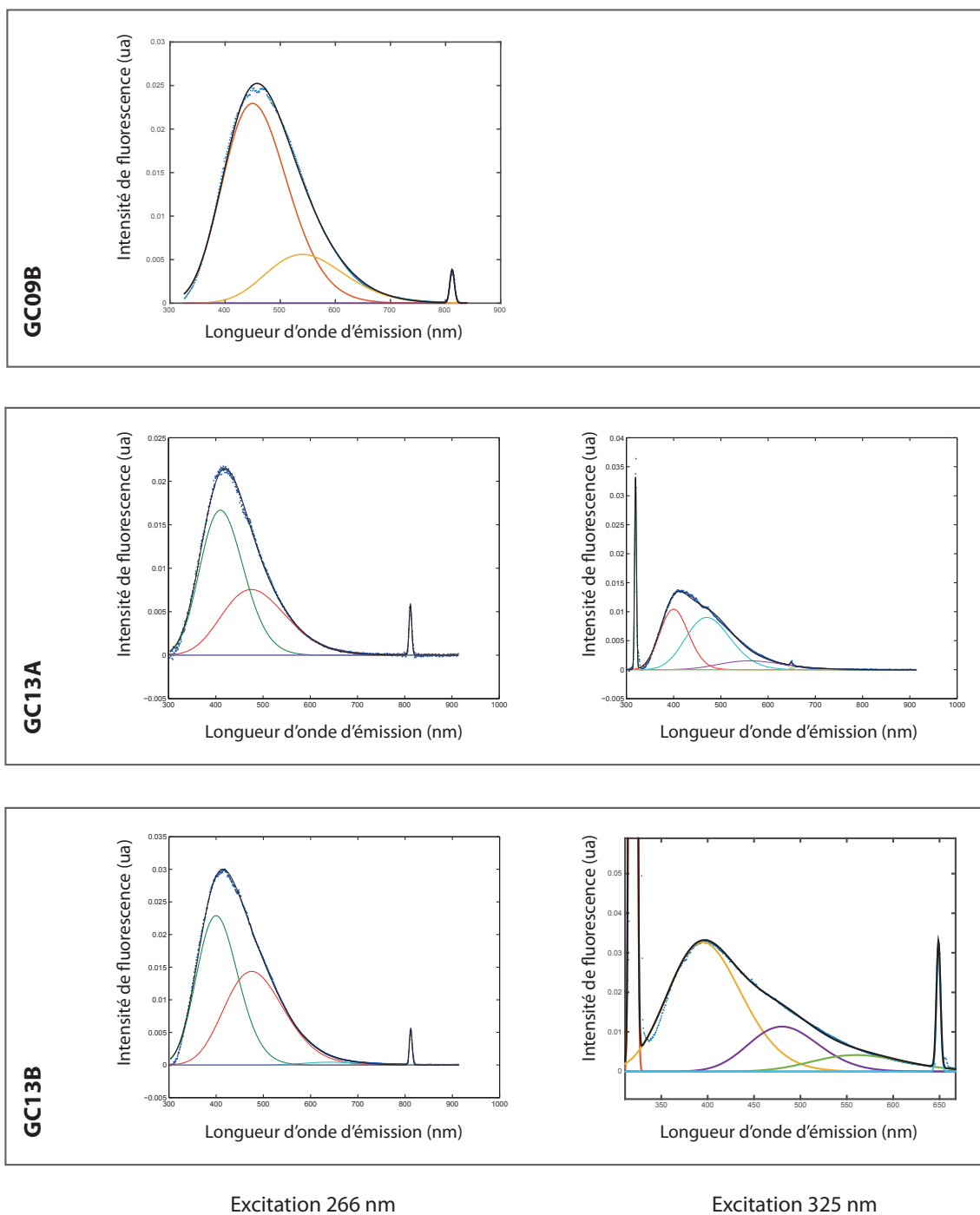


Figure 4.18 – Spectres moyens mesurés (pointillés bleu) à une excitation de 266 nm et de 325 nm pour tous les spéléothèmes du réseau Garde-Cavale et spectres moyens simulés (ligne noire) avec différentes fonctions log-normales (lignes de couleur).

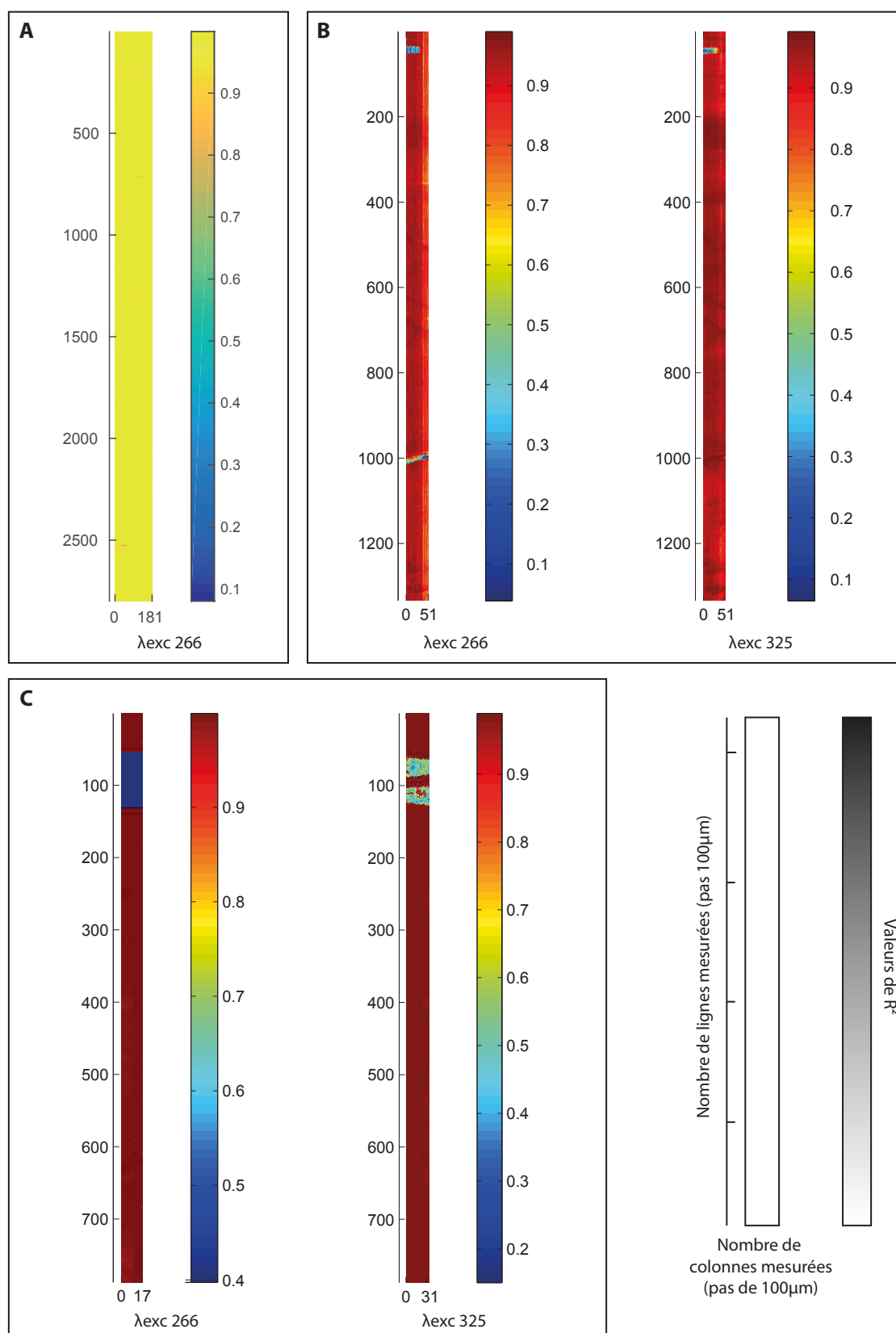


Figure 4.19 – Cartes A, B et C des coefficients de variations pour les 3 stalagmites étudiées, respectivement **GC-09B**, **GC-13A** et **GC-13B**. Une valeur est représentée en fonction de la barre colorimétrique à droite pour chaque point de mesure. La légende des figures est définie sur le schéma en bas à droite.

Ces dernières montrent que les valeurs de R varient autour de 0,9 ce qui valide l'utilisation des paramètres de simulation pour tous les spéléothèmes. Les zones présentant un R faible (notamment pour **GC-13A** et **GC-13B**) correspondent à des zones de trous et de fractures. Les 14 dernières colonnes (à droite) de la carte simulée de **GC-13A** à 266 nm d'excitation sont également moins bien ajustées. Ceci est dû à un problème de mesure (léger dérèglement de la focale ou dérive du laser). Ces colonnes ont été supprimées de l'enregistrement par la suite. Par ailleurs, les données de **GC-09B** à 266 nm d'excitation ne présentent pas le nombre de colonnes totales citées dans le tableau 4.4. Les colonnes supprimées correspondent à un problème du laser (lié à la fin de vie du laser) à partir d'un certain temps de mesure. Les données de ces colonnes n'étant pas exploitables, elles ont été supprimées avant la simulation.

Les modèles d'ajustement utilisés sont donc validés et permettent d'extraire différents pics de fluorescence qu'il est possible d'associer à différents proxies.

4.3.2.3 Détermination des proxies

En fonction de leur longueur d'onde d'émission, les pics de fluorescence détectés dans les spectres de fluorescence de chaque spéléothème peuvent être associés à différents types de matière organique (ex. [Coble, 1996](#); [Parlanti et al. , 2000](#); [Hudson et al. , 2007](#)). Les centres moyens des différentes fonctions log-normales obtenus après simulation pour chaque stalagmite (correspondant à l'émission maximale des pics des fluorophores) sont décrits dans le tableau 4.6.

Certains pics détectés ne sont pas associés à un signal organique de fluorescence. Ainsi, à 266 nm :

- la réflectance infra-rouge (IR, 812 nm) : elle correspond à une partie de l'émission de la diode du laser à 809 nm, non absorbée par le cristal du laser. Comme expliqué précédemment, les variations d'intensité de ce pic correspondent aux variations de la densité optique de la calcite qui modifient le renvoi de la lumière.
- le Mn^{2+} (640 nm) : dans la littérature, une émission de fluorescence entre 570 et 640 nm correspond aux ions Mn^{2+} substitués aux atomes de calcium dans la matrice cristalline ([Machel et al. , 1991](#); [El Ali et al. , 1993](#)). Après ajustement, la valeur moyenne des centres est de 630 nm, ce qui peut donc être interprété comme une émission du Mn^{2+} . Ce pic peut donc être associé ici au Mn^{2+} substitué.

À 325 nm, deux pics correspondent à des effets de diffusion de la lumière : l'émission Rayleigh premier (émission à 325 nm) et second ordre (émission à 650 nm).

Tableau 4.6 – Centres des fonctions log-normales, définis pour l'ajustement des spectres à 266 et 325 nm pour tous les spéléothèmes.

Échantillon	Rayleigh 1 ^{er} ordre	Fluorophore 1	Fluorophore 2	Fluorophore 3	Mn ²⁺	Rayleigh 2 nd ordre	Réflectance IR
Excitation 266 nm							
GC-09B	-	-	450	540	-	-	812
GC-13A	-	410	475	-	640	-	812
GC-13B	-	400	475	-	640	-	812
Excitation 325 nm							
GC-09B	-	-	-	-	-	-	-
GC-13A	320	400	470	560	-	650	-
GC-13B	320	380	430	510	-	649	-

Les autres fonctions log-normales sont associées à des fluorophores organiques. Ainsi, à 266 nm :

- fluorophore 1 (F1, 400 nm)
- fluorophore 2 (F2, 450-475 nm)
- fluorophore 3 (F3, 540 nm)

Ces deux pics correspondent au domaine d'excitation/émission du pic A dans la littérature (ex. [Coble, 1996](#); [Hudson et al. , 2007](#)).

À 325 nm :

- fluorophore 1 (F1, 380-400 nm)
- fluorophore 2 (F2, 430-470 nm)
- fluorophore 3 (F3, 510-560 nm)

Ces pics sont contenus dans le domaine de fluorescence du pic C (ex. [Coble, 1996](#); [Hudson et al. , 2007](#)).

Pour évaluer si ces pics sont des fluorophores indépendants ou non, un test de corrélation de rang (corrélation de Spearman) a été réalisé entre les valeurs des aires (intensités) des différents pics le long de chaque échantillon. Cette corrélation a été choisie préférentiellement à celle de Pearson car la relation entre les différents fluorophores n'est pas supposée être linéaire. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.7.

À 266 nm :

- les fluorophores organiques (F1 et F2) sont corrélés entre eux à plus de 90% ;
- dans le cas de l'échantillon **GC-09B**, F2 et F3 ne sont pas corrélés ($R=0,37$) ;
- les fluorophores organiques (F1 et F2) ne sont pas corrélés avec le pic de manganèse.

Ces résultats montrent que les fluorophores 1 et 2 peuvent être associés au même matériel organique. La détection des deux pics est alors associée à la présence d'un matériel organique présentant une fluorescence bimodale, comme c'est le cas de la chlorophylle B par exemple. Par la suite la somme de l'intensité de ces deux pics sera donc préférentiellement utilisée. Ce matériel est également bien différent du pic associé au manganèse puisqu'il ne sont pas corrélés, ce qui corrobore l'hypothèse d'un signal manganèse dans les spéléothèmes. Pour l'échantillon **GC-09B** cependant, F1 et F3 ne sont pas corrélés, indiquant la présence de 2 fluorophores non associés au même matériel organique. Ces deux pics seront donc utilisés distinctement.

À 325 nm, les fluorophores organiques sont corrélés entre eux (entre 73 et 98 %). Les coefficients de corrélation présentent des valeurs à plus de 0,95 pour **GC-13A**. Le matériel

Tableau 4.7 — Coefficient de corrélation de Spearman calculé entre les différents pics détectés avec l'ajustement le long de chaque échantillon, à 266 et à 325 nm d'excitation.

[illegible]

organique mesuré dans cet échantillon présente donc également une fluorescence bimodale. Pour **GC-13B**, les coefficients de corrélation sont plus faibles (maximum 0,87) ce qui peut traduire une légère variation du matériel organique puisqu'environ 20 % des variations d'intensité de fluorescence ne sont pas corrélées. Cette variation peut être associée à :

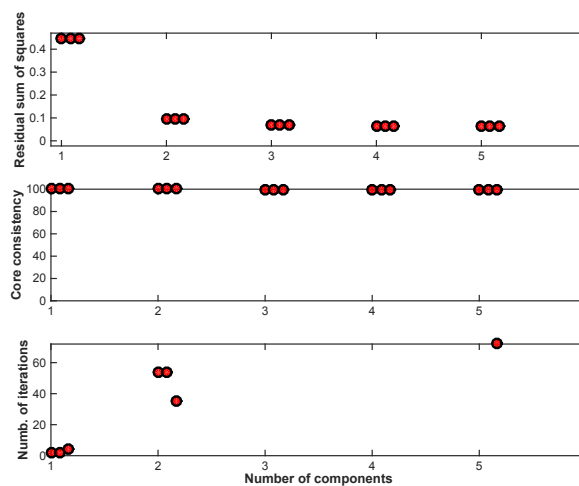
- des mécanismes de complexation. La formation d'un complexe avec d'autres molécules (métaux par exemple) peut entraîner des phénomènes de quenching (voir 4.1.1). Dans le cas des macromolécules organiques présentant deux régions de fluorescence ou plus, comme cela semble être le cas ici, l'effet de quenching peut-être associé à un site d'adsorption du quencheur et ne pas affecter les autres fluorophores de la molécule. Ceci peut expliquer des variations différentes.
- un changement des conditions physico-chimiques. Comme expliqué précédemment (cf 4.1.1), des changements de la physico-chimie, et plus particulièrement du pH peuvent affecter la fluorescence. Or tous les fluorophores ne sont pas affectés de la même façon. Les variations non corrélées des fluorophores peuvent donc être influencées par ce phénomène.
- un changement de conformation moléculaire.

Il est cependant difficile de déterminer lequel de ces processus joue un rôle prépondérant dans ce cas.

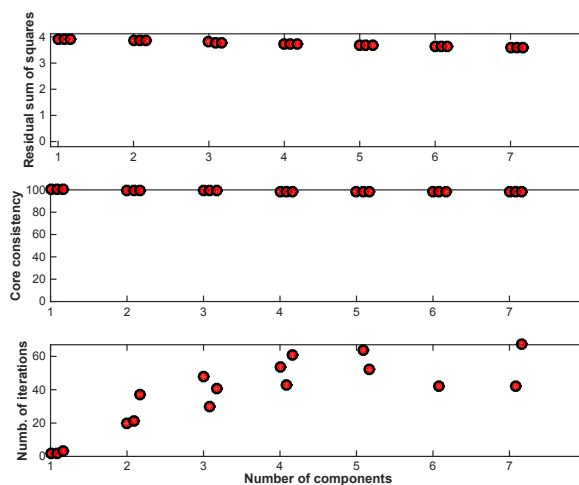
Les corrélations ont également été calculées entre les pics organiques à 266 et 325 nm. Celles-ci montrent que la somme des pics à 266 (F_1+F_2) et celles des pics à 325 ($F_1+F_2+F_3$) sont corrélées à 0,90 et 0,96 respectivement pour **GC-13A** et **GC-13B**. Ceci semble montrer que les pics identifiés à ces deux longueurs d'onde correspondent au même matériel organique.

4.3.2.4 Comparaison avec la méthode PARAFAC

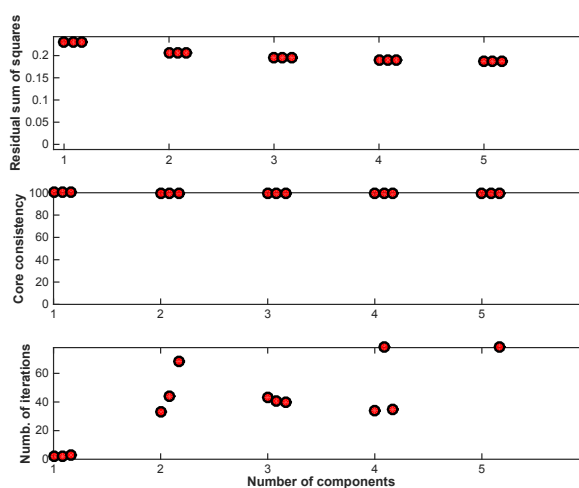
Le traitement des données de fluorescence est majoritairement réalisé à l'aide de deux méthodes. La première et la plus ancienne est celle du peak-picking, qui consiste à enregistrer les maximum d'intensité du spectre d'émission ou d'un domaine émission/excitation selon si l'analyse est en 2D ou 3D. La seconde méthode est le traitement de données, et notamment des spectres 3D, par le traitement PARAFAC (PARAllel FACtor analysis). Ce traitement permet de détecter les composants principaux expliquant le signal de fluorescence grâce à une décomposition multilinéaire. Le spectre total est alors simulé par une combinaison linéaire de pics de fluorescence. Par rapport à la méthode du peak-picking, ce modèle présente l'avantage de décomposer le signal et donc d'identifier les différents fluorophores, et ainsi de travailler à l'échelle du fluorophore. Contrairement à la méthode de simulation présentée précédemment, l'opérateur n'intervient pas sur le nombre de bande (de fluorophore) et le type de fonction. Il paramètre le traitement statistique (unimodalité, non-négativité, orthogonalité). Il nécessite cependant un pré-traitement du signal, et en particulier la suppression des effets Raman et Rayleigh.



(a) GC-09B.

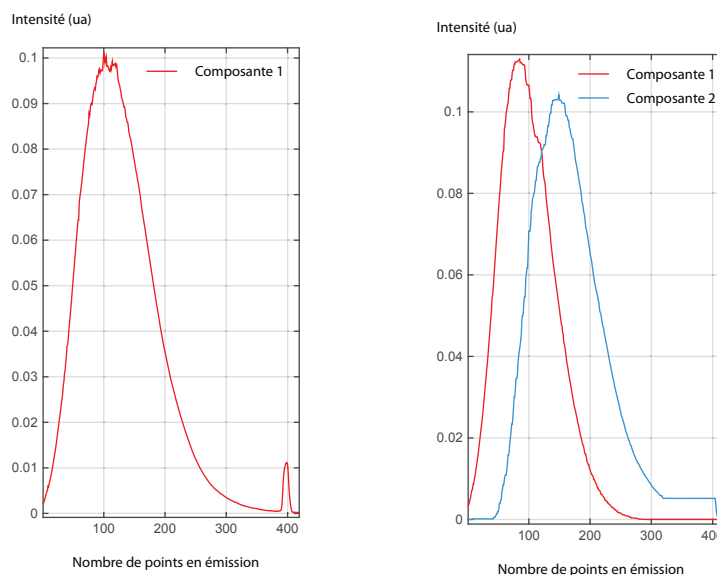


(b) GC-13A.



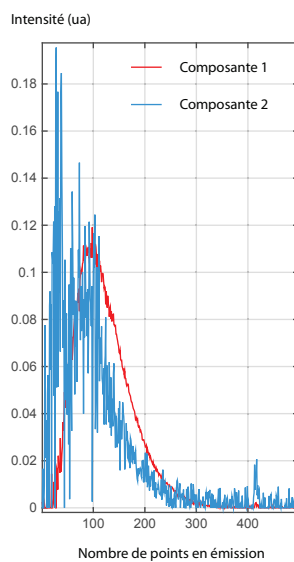
(c) GC-13B

Figure 4.20 – Résultats des tests préalables à l'utilisation du modèle PARAFAC afin de choisir le nombre de composantes adéquat.



(a) 1 composante avec contrainte de non-négativité sur l'échantillon **GC-09B**.

(b) 2 composantes avec contraintes d'unimodalité et de non-négativité sur l'échantillon **GC-09B**.



(c) 2 composantes avec contrainte de non-négativité sur l'échantillon **GC-13A**. La deuxième composante modélise le bruit du spectre.

Figure 4.21 – Résultats de test du modèle PARAFAC avec différents paramètres. Les graphiques montrent les composantes modélisées. L'axe des ordonnées représente l'intensité de fluorescence (ua) et l'axe des abscisses le nombre de points en émission (les spectres ayant été rééchantillonné une longueur d'onde sur deux).

Le principe du traitement PARAFAC étant semblable à la technique de simulation des spectres utilisée dans cette étude, les résultats de ces deux méthodes ont donc été comparés. Pour cela, le traitement PARAFAC a été appliqué aux spectres d'émission à l'aide de la N-way toolbox (Andersson & Bro, 2000). Les résultats montrent que :

- la méthode PARAFAC ne distingue statistiquement qu'un seul pic organique et non plusieurs comme c'est le cas avec la méthode de simulation utilisée dans cette thèse. Les résidus montrent qu'une seule composante suffit à expliquer la majeure partie des spectres (a, b, c figure 4.20). Cela est moins évident dans le cas de **GC-13A** où la différence entre les résidus selon le nombre de composantes utilisées dans le modèle est moins marquée (b, figure 4.20). Cependant, lorsque plus d'une composante est utilisée pour expliquer le signal, les pics simulés correspondent alors au bruit des spectres d'émission (c, figure 4.21). PARAFAC ne permet donc pas dans ce cas d'identifier tous les fluorophores détectés par la méthode de simulation avec les fonctions log-normales, même pour les fluorophores indépendants.
- l'unique composante obtenue avec le traitement PARAFAC modélise à la fois les fluorophores organiques détectés avec notre méthode d'ajustement et le pic de réflectance IR (a, figure 4.21). Ce dernier n'est donc pas modélisé distinctement et considéré comme une composante par le modèle. Si le modèle est forcé à deux composantes unimodales, afin de séparer le pic organique du pic de réflectance IR, PARAFAC ne modélise toujours pas le pic de réflectance IR (b, figure 4.21).

La méthode PARAFAC ne permet donc pas d'obtenir des résultats aussi détaillés que la méthode de simulation utilisée dans cette thèse pour ce type d'échantillon. Elle donne généralement de bon résultats sur les eaux naturelles où les fluorophores sont très différenciés (ex. Stedmon & Markager, 2005; Luciani *et al.*, 2008; Simon *et al.*, 2010; Tissier *et al.*, 2013; Rutledge *et al.*, 2014) mais elle ne semble pas assez discriminante pour analyser les spectres d'émission des spéléothèmes étudiés dans cette thèse. Les résultats de la méthode de simulation décrite précédemment seront donc utilisés par la suite.

4.3.2.5 Caractéristiques des spectres de fluorescence des spéléothèmes de Garde-Cavale

Tous les spéléothèmes étudiés dans ce travail présentent une émission de fluorescence principale entre 380 et 560 nm. Ce domaine d'émission est plus étendu, notamment vers les longueurs d'ondes plus importantes, que celui présenté dans la plupart des articles, compris généralement entre 400 et 480 nm (Blyth *et al.*, 2008; Fairchild & Baker, 2012). Cependant, certains auteurs observent des émissions à des longueurs d'onde plus grandes. Crowell & White (2012) détectent par exemple des pics d'émission entre 520 et 548 nm et entre 556 et 622 nm pour différents spéléothèmes à des excitations de 457,9 et 514,5 nm respectivement. Les auteurs associent ces pics à des composés organiques ayant un poids moléculaire plus important. Par ailleurs, la majorité des études reportent directement la longueur d'onde d'émission correspondant au maximum du pic de fluorescence (ex. Baker

et al. , 1999a; Sundqvist *et al.* , 2005; Brennan & White, 2013). Sans décomposition du signal, il n'est pas possible de détecter les fluorophores émettant à des longueurs d'onde plus importantes. Les pics d'émission maximum des échantillons de cette thèse, sans décomposition du signal, sont compris dans le domaine de fluorescence habituel des spéléothèmes. Les résultats sont donc cohérents avec la littérature, et les spéléothèmes présentent un ou deux types de matière organique différents, caractérisés par plusieurs fluorophores.

Ces spéléothèmes présentent cependant des différences de signal entre eux. Ainsi, les longueurs d'onde d'émission diffèrent selon les spéléothèmes étudiés, et sont plus longues dans l'ordre **GC-09B**>**GC-13A**>**GC-13B**. **GC-13B** présente des centres moyens inférieurs à ceux de **GC-13A**. Si les longueurs d'onde d'émission sont corrélées au poids moléculaire, cela signifie que les composés piégés dans cet échantillon sont de plus petite taille que ceux piégés dans l'échantillon **GC-13A**. De même, pour une longueur d'onde d'excitation de 266 nm, l'échantillon **GC-09B** présente des longueurs d'onde d'émission encore plus élevées. Par ailleurs, les deux fluorophores organiques détectés lors de l'ajustement ne sont pas corrélés, contrairement aux fluorophores des deux autres spéléothèmes. Le second pic ne correspond pas à la même longueur d'onde d'émission que celui de **GC-13A** et **GC-13B**. Ceci indique que cet échantillon contient deux types de matériaux organiques différents, et que ces derniers sont également différents de ceux des autres échantillons. Il contient donc un matériel organique plus variable.

Cette différence est difficilement explicable par une différence de source puisque les spéléothèmes sont très proches. En revanche, une différence d'écoulement apparaîtrait plus probable. En effet, les mécanismes d'adsorption dans l'encaissant, d'activité microbienne ou encore de changement de conformation de la matière organique au cours du transfert dans le système karstique sont des processus modifiant le signal de fluorescence entre les sols et les eaux d'égouttements (voir section 4.1.2). Il est donc probable que ces mêmes mécanismes entrent en compte différemment selon les chemins d'écoulements, et entraînent un décalage des longueurs d'onde d'émission entre deux spéléothèmes. Ainsi des longueurs d'onde d'émission plus grandes, correspondant à des molécules plus grosses, pourraient résulter :

- d'une adsorption moins importante (due à une circulation plus rapide ou à un matériel lithologique différent)
- d'un mécanisme de recharge différent pouvant être dû à un type d'écoulement différent (une circulation plus rapide en fractures augmente la proportion de transfert des molécules les plus grosses), une saisonnalité de la recharge différente (une recharge constituée principalement d'une eau hivernale contiendrait plus de grosses molécules), à un mélange d'eau différent (une eau ayant été stockée plus longtemps contiendrait des molécules plus petites par adsorption et/ou décantation).
- d'une activité microbienne moins importante (moins de dégradation du matériel organique)

Il est actuellement difficile de déterminer la ou les hypothèses expliquant ces différences.

La méthode d'ajustement utilisée dans cette étude permet d'identifier plusieurs fluorophores au sein d'un seul ou de différents types de matières organiques. Ces fluorophores peuvent être utilisés directement ou indirectement (sommées, ratios) pour obtenir des informations quant au changement de quantité et de qualité de la matière organique. À partir de ce traitement de données, des cartes d'intensité de fluorescence et de longueur d'onde d'émission par fluorophore ont pu être produites et utilisées pour reconstituer des profils de variations des intensités et longueur d'onde d'émission de fluorescence le long des spéléothèmes.

4.3.2.6 Construction des profils de fluorescence

Des cartes d'intensité de fluorescence et de longueur d'onde d'émission ont été construites après le traitement des spectres par simulation. Ces cartes permettent de visualiser les variations de fluorescence sur une surface donnée des spéléothèmes. Elles constituent également l'information de base des profils de fluorescence utilisés ensuite dans l'interprétation des résultats. Ces cartes représentent, pour chaque point de mesure, l'aire du fluorophore (correspondant à l'intensité du fluorophore) ou le centre du fluorophore (longueur d'onde d'émission) obtenus lors de la simulation des spectres. Un exemple des cartes d'intensités des fluorophores est présenté dans la figure 4.22 pour l'échantillon **GC-09B**. Les cartes d'intensités des autres spéléothèmes sont disponibles en annexe, page 259. Tous les profils d'intensité de fluorescence présentés dans la suite de ce manuscrit ont été construits à partir de ces cartes.

Pour transformer les cartes de fluorescence en profils de fluorescence, deux méthodes ont été utilisées. La première méthode consiste à réaliser une moyenne sur tout l'échantillon (toutes les colonnes de mesure) pour chaque profondeur (pour chaque ligne de mesure). Cette méthode est simple et permet de prendre en compte toute la surface mesurée de l'échantillon afin de lisser les effets de grains pouvant être occasionnés par une concentration en matière organique non homogène, les facettes cristallines, la microtopographie, la présence de trous et fissures ou de zones de prélèvements. En intégrant toute la surface mesurée, cette méthode limite les effets perturbateurs de ces paramètres sur le signal. Plus la surface mesurée est grande et plus leur impact est minimisé. Cependant, cette méthode ne permet pas de prendre en compte l'axe de croissance qui n'est pas toujours parallèle à l'axe de la mesure. Elle pose également l'hypothèse que les fronts de croissance sont rectilignes sur toute la surface mesurée, ce qui n'est pas toujours le cas. Plus la surface mesurée est grande et plus la probabilité d'obtenir des lamines rectilignes sur cette surface diminue.

Une seconde méthode de traitement est donc proposée. Elle implique une première sélection manuelle de la zone à traiter à l'aide d'une routine sous le logiciel Matlab (a, figure 4.23 ; routine en annexe page 261). Une seconde sélection est réalisée à partir de la

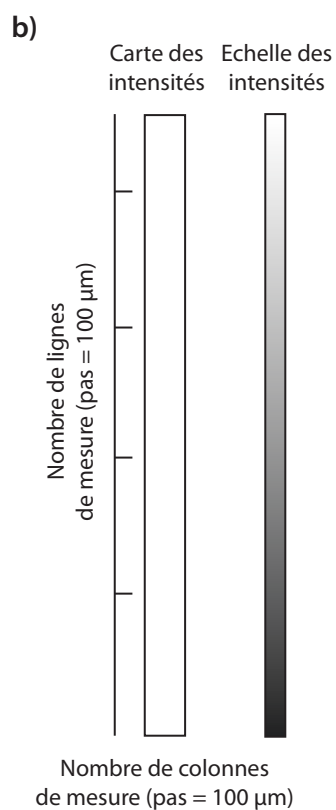
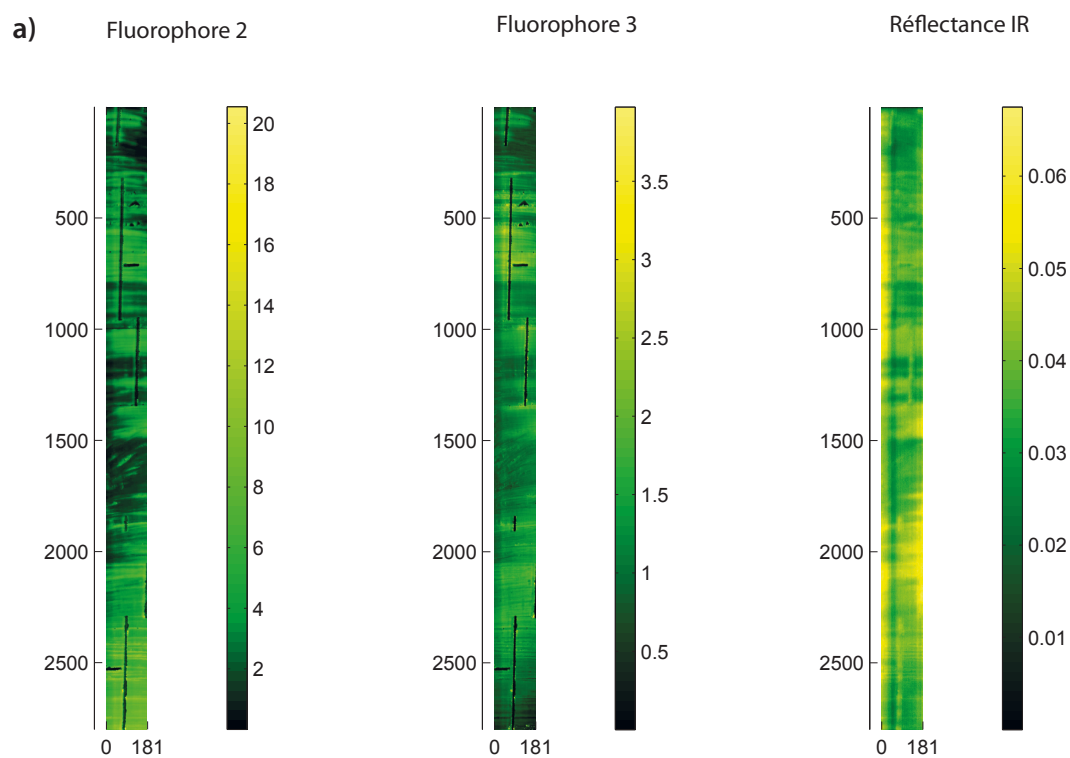


Figure 4.22 – Cartes d'intensités de fluorescence de chaque fluorophore déterminés à partir de l'ajustement des spectres de l'échantillon **GC-09B** à 266 nm d'excitation (a). La légende de ces cartes est disponible dans la partie b) de la figure.

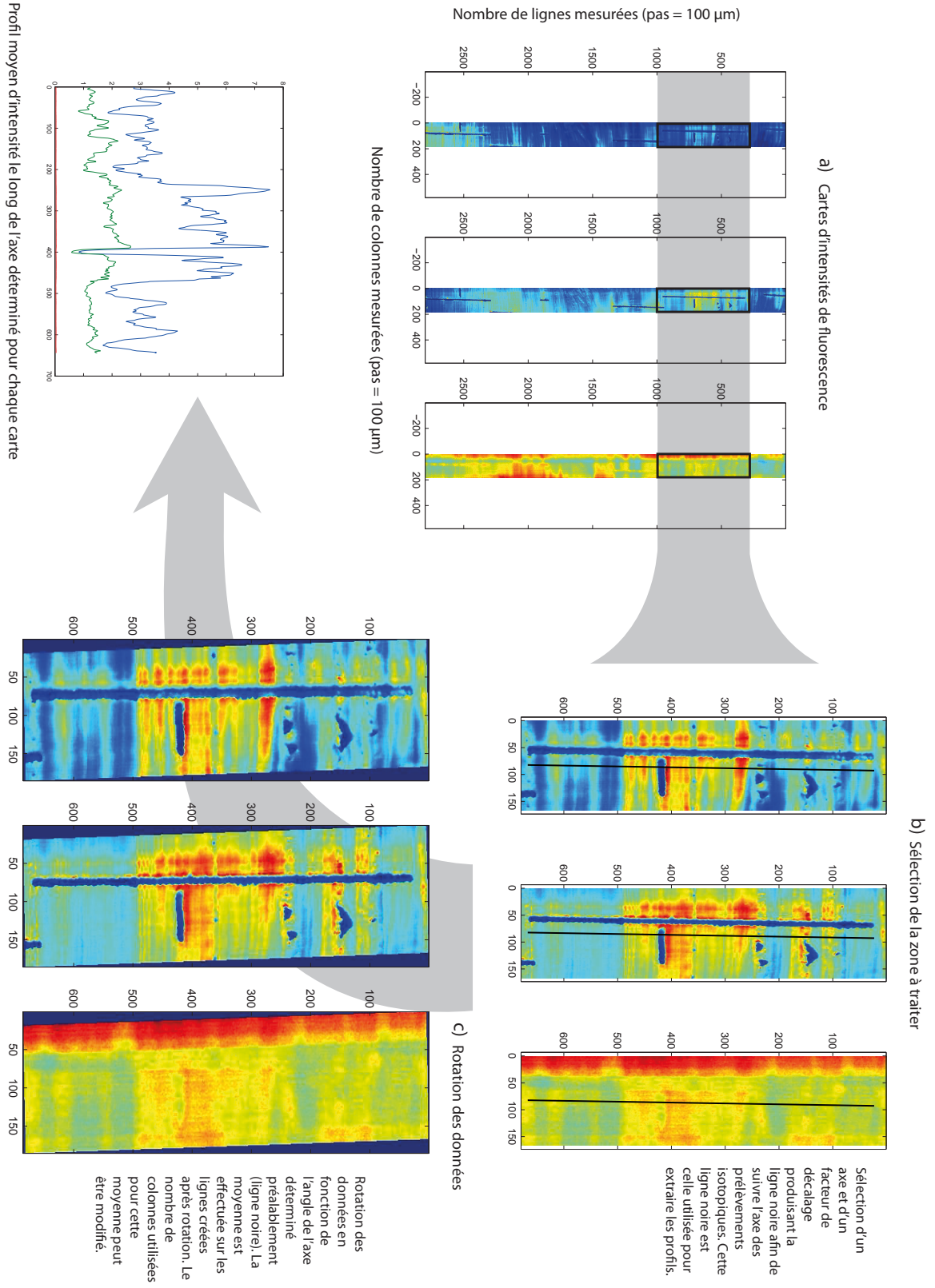


Figure 4.23 – Schéma explicatif de la méthode de construction des profils de fluorescence à partir des cartes de fluorescence. Après sélection d'une zone (a), une droite de sélection est créée et décalée sur la zone à traiter (b). Une rotation est réalisée avec l'angle entre la droite de sélection et l'axe vertical de l'image (c). Une moyenne est ensuite réalisée sur un nombre déterminés de points autour de la droite de sélection (d).

première permettant de tracer une droite, dans la zone choisie, directement sur les cartes de fluorescence (b, figure 4.23). Il est ainsi possible de suivre les axes de prélèvement des isotopes par exemple, ce qui permet à la fois de suivre l'axe de croissance et d'obtenir des données calées avec ces analyses. Il est possible d'associer un décalage à cette droite de sélection, afin de déterminer l'endroit exact de son passage pour limiter l'influence des paramètres cités précédemment. Une rotation est ensuite appliquée à la zone sélectionnée, selon l'angle de la droite de sélection par rapport à la verticale de l'image (c, figure 4.23). Une moyenne est alors réalisée sur les 5 points de part et d'autre de la droite de sélection. Le nombre de points peut-être également modifié. Cette rotation présente l'avantage d'éviter les problèmes du calcul de la moyenne lorsque l'axe de mesure et l'axe de croissance ne sont pas parallèles. Cette méthode permet ainsi d'obtenir :

- une moyenne plus précise car calée avec l'axe de croissance ;
- une moyenne moins influencée par les effets de microtopographie, trous ou fissures ;
- des données déjà calées avec les données isotopiques.

De plus, cette amélioration de la précision des données des profils de fluorescence est possible avec une seule mesure. Avec la première méthode, pour obtenir des axes de mesures parallèles aux axes de croissance, il est nécessaire de réaliser plusieurs mesures différentes, en modifiant l'emplacement du spéléothème sur le spectrofluorimètre pour modifier l'axe de la mesure, ce qui peut également entraîner des biais de la distance focale. La seconde méthode permet d'obtenir ces informations sans déplacer le spéléothème, en réalisant une seule mesure ce qui est donc un gain de temps et limite les erreurs liées au déplacement de la stalagmite lors de la mesure.

La première méthode avait été appliquée dans un premier temps sur les échantillons présentés dans cette thèse. Une comparaison avec la seconde méthode montre que les résultats sont très similaires ($R = 0,93$) sur plusieurs zones de l'échantillon **GC-09B**. Les stalagmites présentent majoritairement des axes de croissance parallèles ce qui limite les biais. Par ailleurs, comme seule une petite surface des échantillons a pu être mesurée pour des raisons techniques, la seconde méthode est difficile à appliquer sur ces échantillons. Les résultats de la première méthode ont donc été conservés pour réaliser les profils dans cette thèse mais la seconde méthode représente une perspective déjà applicable pour les prochains traitements de données. Par exemple, l'échantillon **GC-13A** qui présente une zone caractérisée par un axe de croissance très oblique, pourrait être de nouveau analysé afin d'affiner la mesure de fluorescence dans cette zone.

Un profil d'intensité de fluorescence et de longueur d'onde d'émission par fluorophore a été construit pour chacun des spéléothèmes, suivant la première méthode. Tous ne seront cependant pas utilisés puisque certains sont corrélés entre eux donc représentent le même signal organique. Il est important de noter que seule les longueurs d'onde d'émission ne seront pas utilisées, leurs variations étant inférieures à 1 nm et donc considérées comme négligeables. Un récapitulatif des proxies d'intensité est présenté ci-dessous, par échantillon.

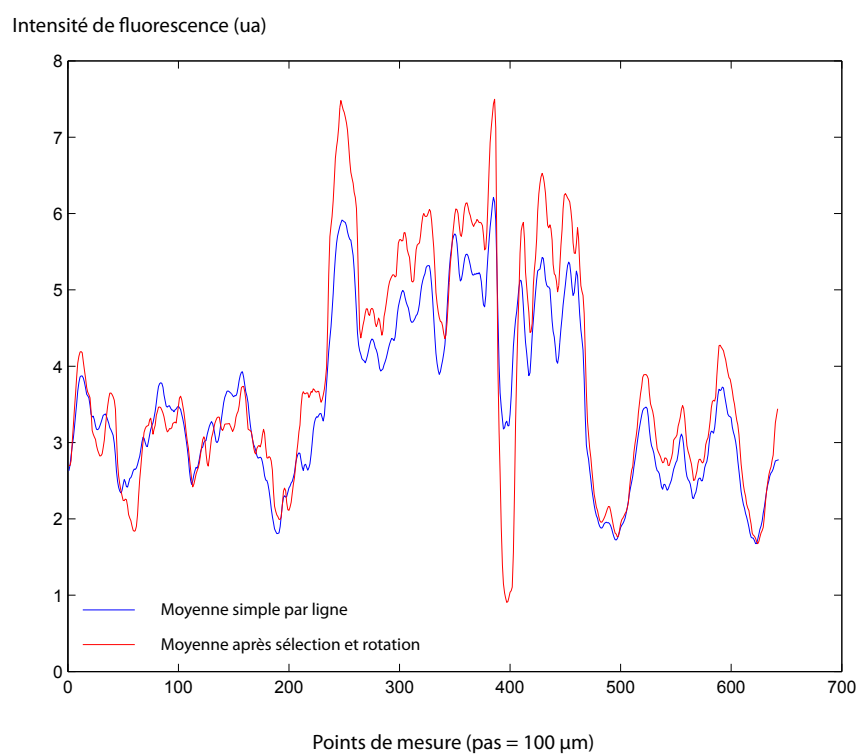


Figure 4.24 – Comparaison des profils obtenus avec une moyenne simple par profondeur (bleu) et moyenne réalisée après sélection et rotation (rouge).

GC-09B Pour cet échantillon, seules les données à une excitation de 266 nm sont disponibles. Plusieurs profils différents ont été sélectionnés pour l'interprétation des données, d'après les résultats de corrélation :

- l'intensité de deux proxies organiques différents (F2 et F3, respectivement 450 et 540 nm) ;
- le ratio d'intensité entre ces deux pics (F2 / F3) pour évaluer les variations de qualité de la matière organique ;
- la réflectance IR.

GC-13A Pour cet échantillon, à $\lambda_{exc}=266\text{nm}$, plusieurs proxies peuvent être utilisés :

- la somme des intensités des pics F1 et F2, qui sont corrélés (respectivement 410 et 475 nm) ;
- le signal d'intensité du manganèse ;
- la réflectance IR.

Avec une excitation de 325 nm, les coefficients de corrélation entre les proxies organiques sont plus faibles (moins de 0,90). La somme des intensités sera également utilisée (F1 + F2 + F3, respectivement 400, 470 et 560 nm) mais 3 ratios ont également été calculés (F1/F3, F2/F3, F2/F3) pour évaluer les variations entre les pics.

GC-13B Avec une excitation à 266 nm, les proxies suivant seront utilisés :

- la somme des intensités des pics F1 et F2 (car les fluorophores sont corrélés à plus de 90%) ;
- le signal d'intensité du manganèse ;
- la réflectance IR.

La somme des pics F1, F2 et F3 est également utilisée à 325 nm d'excitation puisque ces fluorophores sont corrélés.

Cependant, les valeurs d'intensités ne fournissent qu'une information semi-quantitative ; le passage vers une information quantitative nécessitant la correction du signal, discutée dans le paragraphe suivant.

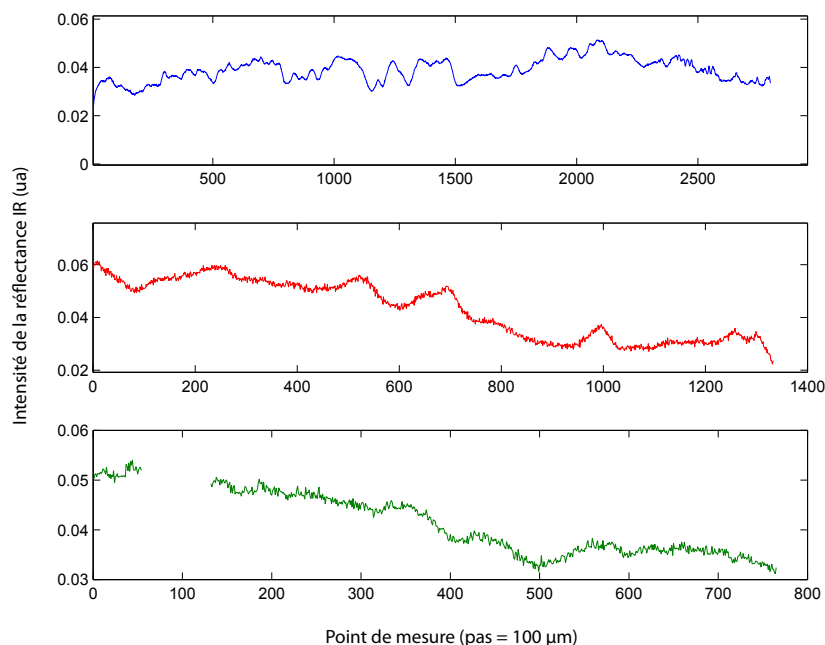


Figure 4.25 – Signal moyen d'intensité (unité arbitraire) de la réflectance IR le long de l'échantillon. Les courbes bleu, rouge et verte correspondent respectivement aux échantillons **GC-09B**, **GC-13A** et **GC-13B**. L'axe des abscisse représente chaque point de mesure le long de l'axe de croissance de l'échantillon avec un pas de 100 μm .

4.3.2.7 Correction de l'effet de la matrice sur le signal de fluorescence

Plusieurs articles mentionnent l'impact de la structure cristalline sur les mesures d'intensité de fluorescence. Pour plusieurs auteurs, l'augmentation de la porosité entraîne par exemple une augmentation du signal de fluorescence mesuré, du fait de la réflexion plus importante de la lumière (Genty *et al.*, 1997; McGarry & Baker, 2000; Perrette *et al.*, 2000). Dans la méthodologie développée dans cette thèse, il est également montré que le signal d'intensité de fluorescence ne peut être directement relié à la quantité en carbone organique car il est fortement impacté par la densité optique de la matrice cristalline (Quiers *et al.*, 2015). Pour obtenir une information quantitative, il est donc nécessaire de s'affranchir de l'effet de matrice. Celui-ci peut être évalué grâce à la mesure de la réflectance IR ($\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 266/812 nm) dont les variations traduisent une modification de la réflexion de la lumière, associée à un changement de la densité optique de la calcite. Les variations de la réflectance le long de chaque échantillon sont présentées dans la figure 4.25.

Tous les échantillons étudiés dans ce travail sont marqués par des variations du signal de la réflectance IR. Sans correction de cet effet, les variations d'intensité de fluorescence de

la matière organique ne sont pas représentatives directement des variations de la quantité de matière organique dans le spéléothème.

Le travail réalisé dans cette thèse sur la quantification du signal de fluorescence montre que le signal d'intensité de fluorescence ne peut être corrigé de manière linéaire avec la réflectance IR (voir 4.3.1, [Quiers et al. , 2015](#)) ce qui est dû au fait que la réflectance est définie par plusieurs paramètres comme la densité, la composition cristalline ou le filtre interne. Cependant, le modèle de correction non linéaire développé dans cette méthode nécessite des analyses de fluorescence en phase liquide qui n'ont pas été réalisées sur ces spéléothèmes. Ce développement a en effet été réalisé en fin de thèse, le sujet portant initialement sur les HAP, et n'a pu être appliqué aux spéléothèmes de Garde-Cavale faute de temps. Le signal d'intensité de fluorescence a donc simplement été divisé par la réflectance IR de chaque échantillon afin de réaliser une première correction de l'effet de densité optique. Ceci est le cas pour toutes les intensités des fluorophores (ou sommes des intensités) utilisées par la suite dans cette thèse.

Par ailleurs, il est possible également d'utiliser la réflectance IR comme proxy, comme c'est le cas avec la réflectance UV ([Perrette et al. , 2000, 2005](#)). La réflectance IR peut être donc être utilisée comme un signal de modification de la densité optique, en sachant toutefois qu'une perturbation de ce signal peut être apportée par les changements éventuels de distance focale. Ceux-ci devraient être négligeables étant donné l'attention particulière portée à la planéité de la surface de l'échantillon lors des mesures. La densité optique de la calcite et plus particulièrement la porosité est fonction de la vitesse de précipitation et de la saturation de la solution. Une augmentation de la vitesse de précipitation ou une augmentation de la saturation de la solution entraînent une augmentation de la porosité ([Frisia et al. , 2000](#)). La réflectance IR peut donc être un indicateur de l'un ou l'autre de ces paramètres.

Un projet de mesure de la lumière réfléchie utilisant l'image du spot lumineux dans la calcite est en cours. Une caméra a été mise en place sur l'installation afin d'obtenir une image de la diffusion de la lumière dans la calcite pour chaque point de mesure. Le traitement de données reste à développer mais la mesure de la superficie du spot lumineux pourrait permettre d'évaluer le "volume" de calcite excité lors des mesures et ainsi de mieux intégrer l'effet de matrice dans le modèle non linéaire.

Par ailleurs, l'utilisation de scanners médicaux, permettant d'obtenir une image de la densité de la calcite pourraient également être une solution. En utilisant les moyens techniques du laboratoire, une mesure de la quantité de calcium à l'aide du core scanner XRF pourrait également être envisageable. Cependant, cela nécessite des travaux d'optimisation de la mesure. De premiers tests réalisés avec A.L. Develle montrent que le calcium étant présent en très grande quantité, sature la détection. Il perturbe également la lecture du spectre pour individualiser les pics d'autres éléments. Enfin, le core scanner n'est pas encore équipé d'une caméra, ni d'une table de déplacement motorisée en Y, ce qui pose le

problème de la localisation de l'aire de mesure. En effet, il faut réaliser plusieurs mesures s'il on veut décaler l'aire d'irradiation lors de la mesure de l'échantillon et il est assez difficile de déterminer avec précision la zone mesurée sur le spéléothème. Il est donc complexe d'éviter les zones des prélèvements isotopiques dont la présence dans l'aire d'irradiation perturbe le signal obtenu. Les tests d'optimisation de la mesure réalisés avec A.L. Develle ont été présentés dans un poster (annexe page 268) à l'occasion de la conférence de l'Association de Sédimentologie Française à Paris en 2013.

4.3.2.8 Profils en fonction des modèles d'âges

Une fois corrigés, les profils de fluorescence ont dû être recalés en fonction du modèle d'âge. Les prélèvements isotopiques ne forment pas une droite au centre du spéléothème mais plusieurs segments différents qui ne sont pas forcément centrés ni parallèles mais qui suivent l'axe de croissance. Les données ont été calées en fonction des modèles d'âge. Les données de fluorescence ont donc été dans un premier temps calées sur les données isotopiques pour être ensuite comparées à ces dernières et reliées au modèle d'âge. La fluorescence ayant été mesurée en une seule fois, elle n'est donc pas automatiquement réalisée proche et parallèle aux prélèvements isotopiques. La distance entre les points de mesure de fluorescence a donc été interpolée en fonction de la distance entre les points de mesure des analyses isotopiques. Ceci peut causer des zones de distortion du signal de fluorescence si la distance entre les points est compressée ou étirée par rapport au pas réel de 100 μm . Les âges correspondant à ces nouvelles données ont été interpolés à partir du modèle d'âge des données isotopiques. Les profils obtenus en fonction du temps sont présentés dans le chapitre 5.

4.4 Conclusions

La fluorescence de la matière organique est un outil fiable, non destructif et à haute résolution permettant d'enregistrer les variations semi-quantitatives et qualitatives de la matière organique des spéléothèmes. Les premières sont approchées avec l'intensité de fluorescence et les secondes avec les longueurs d'onde d'émission. Dans les spéléothèmes les variations de ces deux paramètres ont été associées aux dynamiques de la matière organique dans les sols liée à la végétation, au climat ou à l'action anthropique.

Cette mesure reste cependant semi-quantitative. Pour permettre de reconstituer les flux de carbone, un développement méthodologique a été réalisé pour quantifier le signal de fluorescence en phase solide. Cette quantification est basée sur un couplage des mesures d'intensité en phase liquide d'extraits de matière organique de sols et de stalagmites pour établir estimer des concentrations en carbone organique en fonction des intensités de fluorescence. Cette relation a été appliquée à la mesure en phase solide à l'aide d'un modèle non linéaire prenant en compte la réflectance IR et a ainsi permis de reconstruire une carte des concentrations en carbone organique pour les derniers 400 ans d'une stalagmite du Vercors.

Ce chapitre souligne également l'importance de l'effet de la matrice cristalline sur la mesure de fluorescence solide. Ces travaux ont montré qu'une correction linéaire simple à partir de la fluorescence IR ne suffit pas à supprimer ce biais. Le modèle non linéaire développé dans la méthode de quantification est une première approche mais nécessite un développement méthodologique.

Des cartes de fluorescence ont été réalisées pour les trois spéléothèmes de Garde-Cavale étudiés. Celles-ci ont permis la construction de profils de fluorescence en fonction de la profondeur, recalibrés en fonction des âges en utilisant une méthode de traitement basée sur la décomposition du spectre d'émission. Cette dernière simule les paramètres (intensité, longueur d'onde d'émission) des différents spectres d'émission mesurés afin de permettre la réalisation des cartes, puis des profils. L'estimation des flux de carbone n'a cependant pu être réalisée, faute de temps.

CHAPITRE 5

Interprétation des changements environnementaux à la Féclaz durant l'Holocène.

Objectifs du chapitre :

- Construction d'un enregistrement robuste par réplication en utilisant plusieurs spéléothèmes
- Interprétation d'un couplage d'indicateurs organiques et inorganiques pour reconstruire les variations de l'environnement sur le plateau de la Féclaz durant les derniers 6000 ans
- Intégration de cette interprétation dans un contexte paléoenvironnemental et climatique régional par comparaison avec d'autres enregistrements

5.1 Réplication du signal

Les spéléothèmes ont été largement utilisés pour retracer les changements environnementaux et climatiques à l'échelle locale ou régionale (ex. [Bar-Matthews et al. , 1997](#); [Baker et al. , 1998](#); [McDermott et al. , 1999](#); [Wurth et al. , 2004](#); [Perrette et al. , 2005](#); [Spötl et al. , 2006](#); [Rushdi et al. , 2011](#); [Genty et al. , 2014](#); [Regattieri et al. , 2014](#)). Cependant, ces archives sont sensibles aux particularités des écoulements alimentant chacune d'entre-elles, souvent appelées "effets de site" ([Fairchild et al. , 2006](#); [McDermott et al. , 2011](#)). Les variabilités dans la recharge, le temps de résidence et les chemins d'écoulement empêchant une homogénéisation parfaite du signal, peuvent entraîner des variations de l'ordre de 10% du $\delta^{18}\text{O}$ des eaux souterraines d'une même grotte. Deux spéléothèmes de la même grotte peuvent ainsi par exemple présenter un signal de $\delta^{18}\text{O}$ différent ([Denniston et al. , 1999](#); [Williams & Fowler, 2002](#); [Williams et al. , 2004](#)). Ceci est particulièrement vrai pour les spéléothèmes holocènes des moyennes et hautes latitudes, pour lesquels des variabilités non reliées au climat peuvent se surimposer aux faibles amplitudes de variations du $\delta^{18}\text{O}$ (généralement autour de plus ou moins 1‰ autour de la moyenne à long-terme) et du $\delta^{13}\text{C}$ ([McDermott et al. , 2011](#)). La fluorescence de la matière organique est égale-

ment sensible aux effets de site puisque deux spéléothèmes voisins de quelques centimètres d'écart peuvent présenter un signal variable attribué à des différences d'écoulement (Crowell & White, 2012; Brennan & White, 2013). Pourtant, les méthodologies pour discriminer le signal climatique des bruits liés aux effets de site ont été peu développées. On en recense trois dans la littérature :

- la réplication des enregistrements avec l'utilisation de stalagmites de la même grotte ou de la même région.
- les approches multi-proxies couplant, par exemple, les isotopes stables de la calcite avec différents proxies comme la minéralogie, la texture, le taux de croissance ou les éléments trace.
- la compilation de nombreux enregistrements (exemple à l'échelle de l'Europe) qui permettent d'extraire un signal climatique mais n'apportent pas ou peu d'information environnementales (McDermott, 2010).

Plusieurs études soulignent l'importance d'une réplication des signaux paléoclimatiques et environnementaux enregistrés dans les spéléothèmes, et utilisent cette méthode afin de détecter les effets de site (Baker *et al.* , 1997b; McDermott, 2004; Williams *et al.* , 2004, 2005; Dorale & Liu, 2009; Lachniet, 2009; Hardt *et al.* , 2010; Crowell & White, 2012; Kluge & Affek, 2012; Demeny *et al.* , 2013; Zhang *et al.* , 2014). Ainsi, si les signaux de différents spéléothèmes d'âge similaire sont significativement différents, ils reflèteraient alors des processus liés aux effets de site. À l'inverse, des signaux cohérents traduiraient un enregistrement paléoclimatique. Kluge & Affek (2012) notent cependant que, même avec des signaux se répliquant, le signal peut être influencé par des processus cinétiques qui varieraient de manière uniforme à l'échelle des différents spéléothèmes étudiés.

Dans cette thèse, les trois spéléothèmes étudiés présentent des phases de croissance qui se recoupent, sur les derniers 6000 ans, permettant ainsi de répliquer le signal. Une comparaison des variations des différents proxies au cours du temps devrait permettre d'identifier si l'utilisation de ces proxies permet de remonter à une information climatique et/ou environnementale locale, ou s'ils découlent d'un effet de site.

5.1.1 Le $\delta^{18}\text{O}$

Le rapport isotopique de l'oxygène de la calcite (figure 5.1) pour les trois spéléothèmes montre des variations similaires au cours du temps, en termes de valeurs absolues comme en termes de tendance. Cet élément peut donc être utilisé dans ce cas comme un indicateur des changements climatiques et/ou environnementaux, au moins à l'échelle locale, puisque le signal est répliqué.

Un signal composite, compilant les signaux des trois spéléothèmes, a été construit. Étant donné que les trois signaux montrent des valeurs absolues très proches, le signal

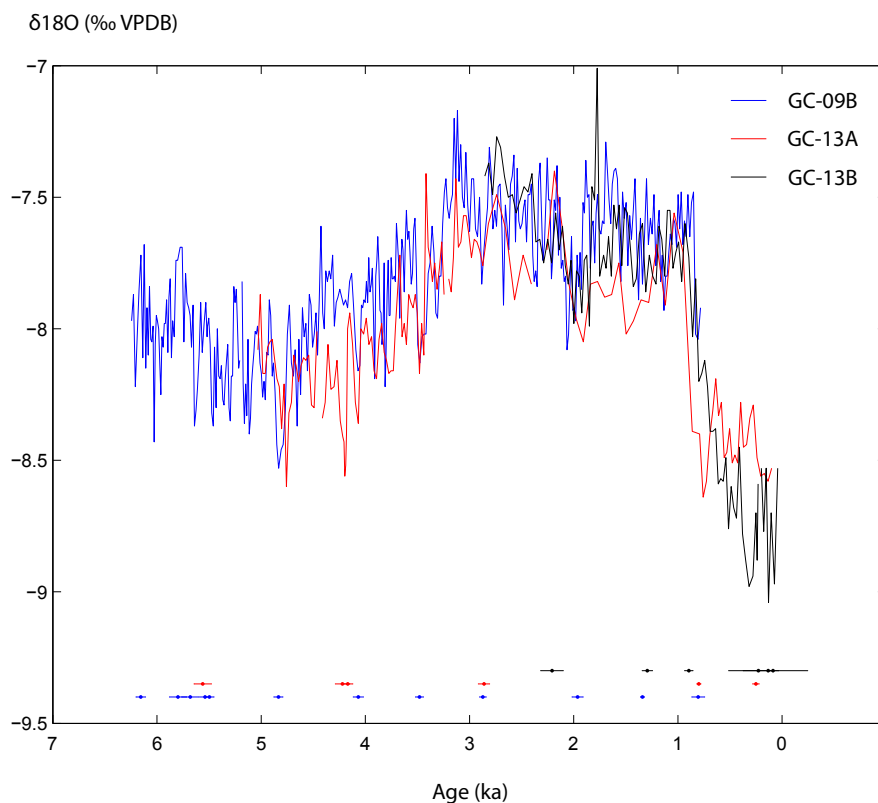


Figure 5.1 – Évolution des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ (‰ VPDB) de la calcite au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés (courbes bleue = **GC-09B**, rouge = **GC-13A**, et noire = **GC-13B**). Les points en bas du graphique représentent les dates réalisées sur chacun des échantillons (selon le même code couleur) avec l'erreur associée à ces dates.

composite a été calculé en moyennant les différentes courbes. Pour que les jeux de données soient comparables et qu'il soit possible de les moyennner, les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ ont été interpolées selon un nouveau modèle d'âge construit avec un pas constant de 10 ans. Une moyenne a ensuite été réalisée sur les périodes se recoupant. Pour la suite de l'étude, seuls les échantillons **GC-09B** et **GC-13B** ont été utilisés. Le modèle d'âge de **GC-13A** étant moins bien contraint, il n'a pas été utilisé afin de ne pas biaiser le signal composite. Pour les zones en dehors des périodes de recouvrement, les courbes de $\delta^{18}\text{O}$ des échantillons seules ont été utilisées. Le signal composite résultant de cette construction est présenté dans la figure 5.2.

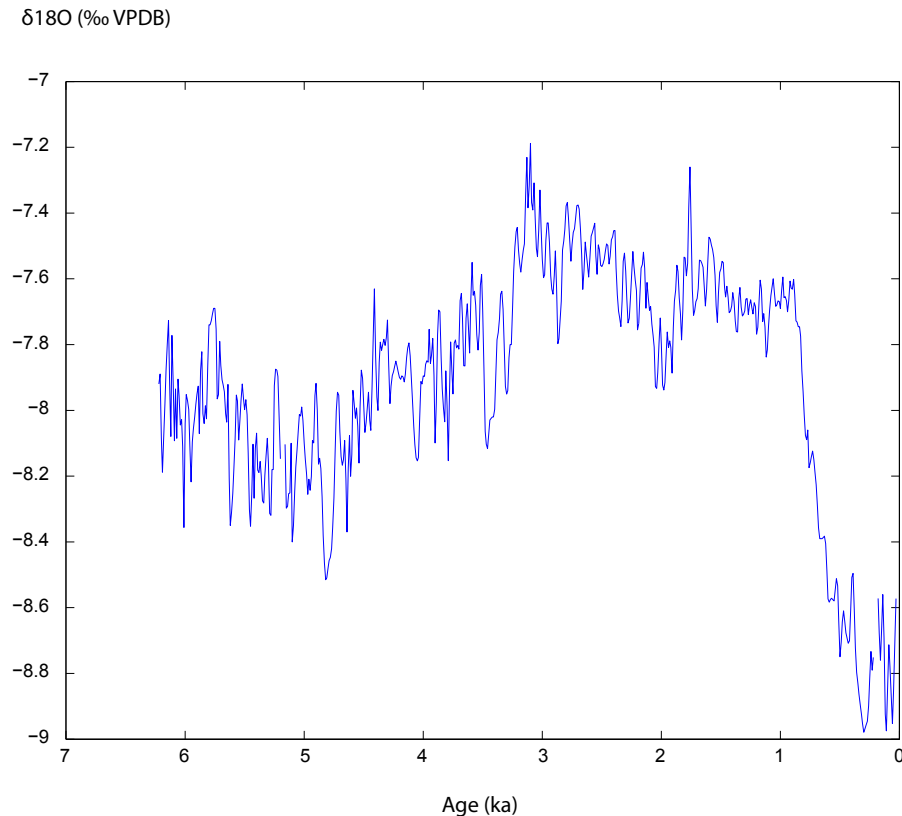


Figure 5.2 – Signal composite des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ (‰ VPDB) de la calcite au cours du temps construit à partir des échantillons **GC-09B** et **GC-13B**.

5.1.2 Le $\delta^{13}\text{C}$

Le rapport isotopique du carbone de la calcite (figure 5.3) pour les trois spéléothèmes montre en revanche des variations très différentes au cours du temps. Comme les spéléothèmes sont situés dans la même salle, il est difficile d'attribuer les différences de variations du $\delta^{13}\text{C}$ à des différences d'environnement ou de climat en surface. Autrement dit, ces dissemblances sont dues à une modification du signal lors du transfert dans le système, et reliées à des particularités d'écoulement. Le rapport isotopique du carbone de la calcite est en effet bien plus sensible à son transfert dans le karst que celui de l'oxygène (Couchoud, 2008a; Cosford *et al.*, 2009). Il peut être modifié par différents facteurs, qui n'affectent pas le $\delta^{18}\text{O}$ comme :

- la proportion de carbone fournie par l'encaissant et contrôlée par le type de dissolution (Genty *et al.*, 2001) et le temps de transit.

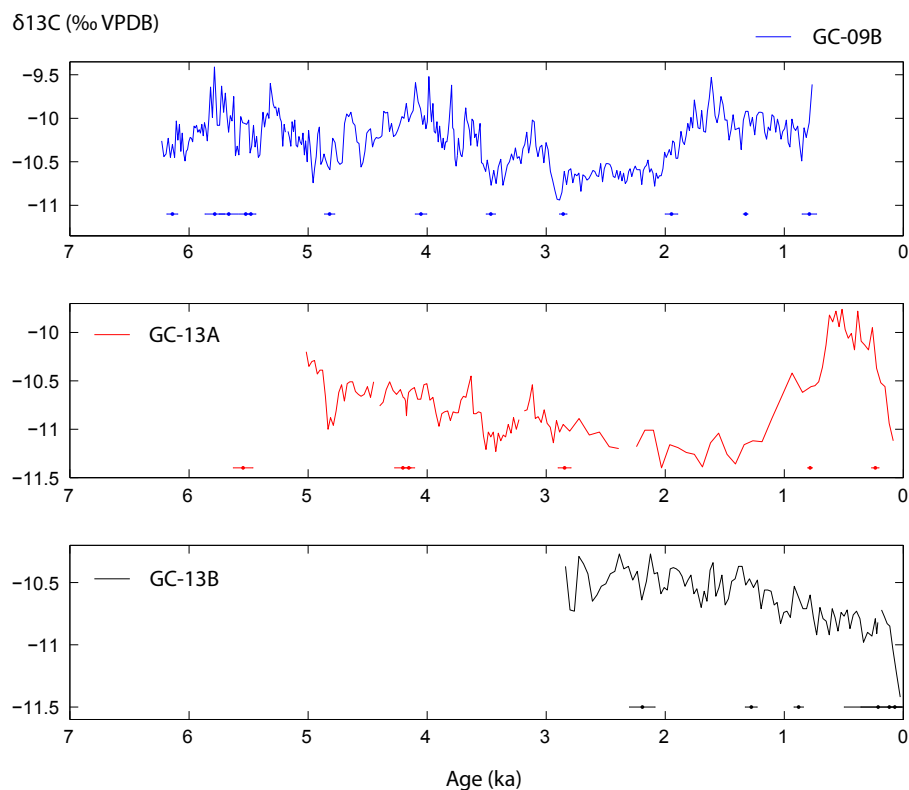


Figure 5.3 – Évolution des valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ (‰ VPDB) de la calcite au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés (courbes bleue = **GC-09B**, rouge = **GC-13A**, et noire = **GC-13B**). Les points en bas du graphique représentent les dates réalisées sur chacun des échantillons (selon le même code couleur) avec l'erreur associée à ces dates.

- le chemin d'écoulement, avec notamment des phénomènes de *Prior Calcite Precipitation* (PCP) ([Genty et al. , 2001](#); [Couchoud, 2008a](#)).

[Demeny et al. \(2013\)](#) observent également un signal similaire du $\delta^{18}\text{O}$ entre les stalagmites étudiées dans des grottes proches, alors que les valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ sont significativement différentes. Les auteurs associent ces différences à un impact de la ventilation mais ne rejettent pas l'hypothèse d'effets locaux comme des modifications de l'activité du sol ou des écoulements. Au contraire du signal du rapport isotopique de l'oxygène, celui du carbone n'est donc pas utilisé dans leur cas comme un signal paléoclimatique.

Les variations du $\delta^{13}\text{C}$ ne sont donc pas répliquées dans les trois archives utilisées ici, et sont certainement soumises à une forte influence des effets de site. Ce proxy ne peut donc pas être utilisé directement dans cette étude pour retracer les variations climatiques et environnementales.

5.1.3 La fluorescence de la matière organique

Le signal d'intensité de fluorescence de la matière organique montre des variations semblables dans les grandes tendances pour les échantillons **GC-09B** et **GC-13B** (figure 5.4). Ce n'est pas le cas lorsqu'on observe ces variations pics à pics, ce qui peut être expliqué par :

- des changements de distance focale liés à la microtopographie de la surface des spéléothèmes influençant les mesures d'intensité ;
- un étirement ou une compression du signal liés au décalage entre la zone de mesure et l'axe de croissance du spéléothème ;
- une différence de concentration entre les deux spéléothèmes liés à des spécificités d'écoulement.

Étant donné les biais possibles liés à la mesure, on peut considérer que les variations d'intensité de fluorescence de la matière organique sont répliquées dans les grandes tendances. Ce n'est pas le cas pour l'échantillon **GC-13A**, dont le signal montre des variations différentes des autres spéléothèmes. Cette stalagmite présente plusieurs hyatus (autour de -4200, -2700 et -1150 ans, voir figures 2.17 et 2.20) qui ne sont pas entièrement pris en compte dans le modèle d'âge du fait d'un manque de dates.

De plus, entre -1200 et -2650 ans l'axe de croissance est oblique et décalé par rapport au reste de la stalagmite. Le signal de fluorescence dans cette zone est donc fortement étiré et les variations sont écrasées. Il est donc difficile d'utiliser les mesures de fluorescence de ce spéléothème. Une amélioration du modèle d'âge ainsi qu'un traitement du signal avec la méthode par rotation décrite dans le chapitre précédent permettrait d'évaluer si le signal est comparable à celui des autres spéléothèmes.

Le signal de fluorescence utilisé par la suite correspond donc au signal d'intensité de **GC-09B** et **GC-13B**. Comme l'échantillon **GC-09B** n'a pu être mesuré à 325 nm d'excitation et que les mesures d'intensité à 266 et 325 nm sont corrélées pour **GC-13B**, seules les données réalisées à une longueur d'onde d'excitation de 266 nm seront utilisées. Un signal composite d'intensité totale de fluorescence a donc été contruit à partir de la somme des intensités des fluorophores, corrigées de la réflectance IR, pour les stalagmites **GC-09B** et **GC-13B**.

L'amplitude des variations d'intensité est liée à la mesure instrumentale et peut donc différer d'un spéléothème à l'autre. Pour s'affranchir de ces variations, les échantillons ont été rapportés à une moyenne unique et normalisés à la variance. Comme les données d'intensités n'ont pas d'unités, la valeur moyenne a été définie arbitrairement. La normalisation s'est faite à partir de la variance sur la période de recouvrement de l'enregistrement le plus long (**GC-09B**). Ceci a été appliqué à la totalité des deux séries. Les deux jeux de données ont ensuite été assemblés ; la période de recouvrement étant reconstruite en moyennant les deux jeux de données (figure 5.5).

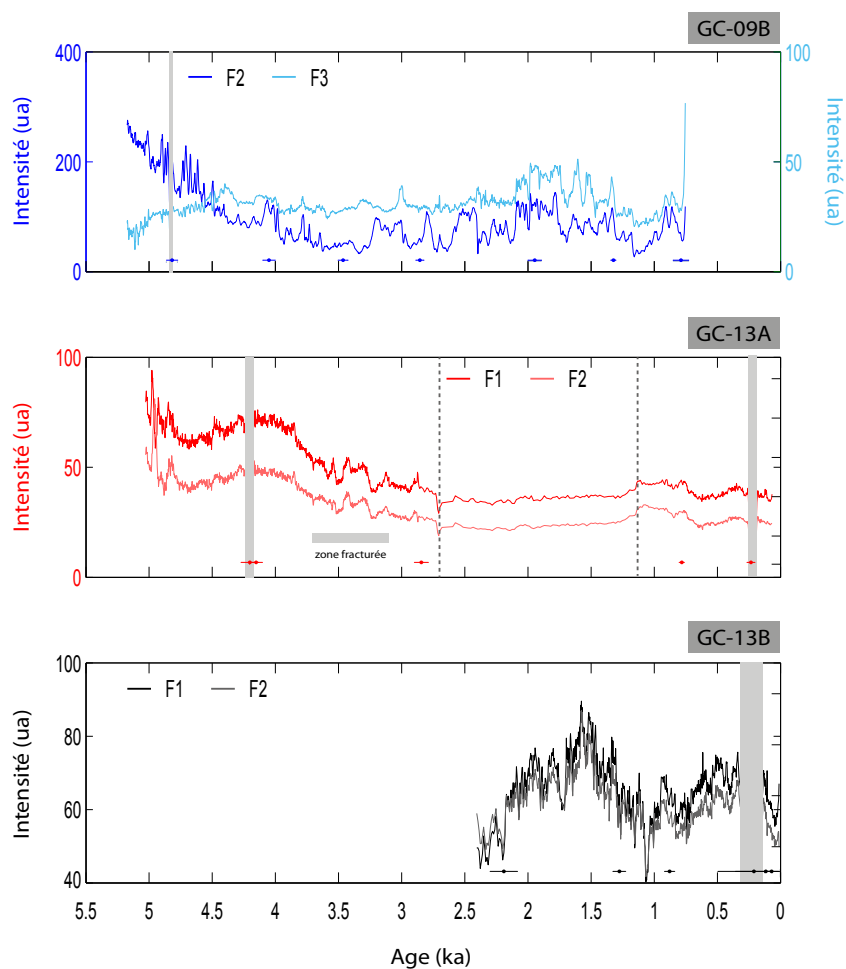


Figure 5.4 – Évolution des valeurs de l'intensité de fluorescence du pic 1 à 266 nm d'excitation, corrigées de la réflectance IR, au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés (courbes bleue = **GC-09B**, rouge = **GC-13A**, et noire = **GC-13B**). Les points en bas du graphique représentent les dates réalisées sur chacun des échantillons (selon le même code couleur) avec l'erreur associée à ces dates. Les traits pointillés gris symbolisent les hyatus et les zones grisées représentent les mesures influencées par la présence de fracture ou de prélèvements sur la zone de mesure.

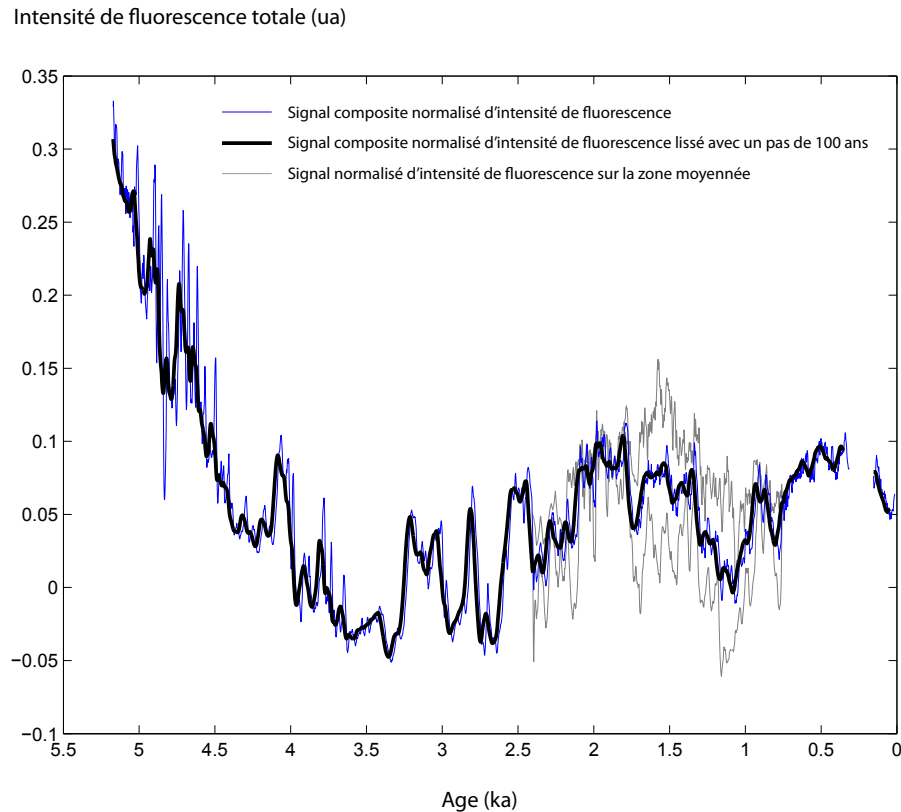


Figure 5.5 – Signal d'intensité de fluorescence totale (courbe bleue) reconstruit à partir des variations d'intensité des spéléothèmes **GC-09B** et **GC-13B** (courbes grises) pour la période de recouvrement des échantillons. Le signal d'intensité est basé sur la somme des pics 1 et 2 corrigée de la réflectance IR. La courbe noire représente le signal lissé avec un pas de 100 ans.

Par ailleurs, les fluorophores F1 et F2 de l'échantillon **GC-13B** étant corrélés, seul le ratio des fluorophores F2/F3 de l'échantillon **GC-09B** sera utilisé.

5.1.4 La réflectance Infra-Rouge

La réflectance IR montre trois tendances distinctes (figure 5.6). Ce proxy est une représentation de la densité optique de la calcite qui est influencée par les conditions d'écoulement (vitesse de précipitation) et la saturation de la solution (cf. chapitre 4). Cependant, la mesure de ce signal peut également être influencée par les variations de la microtopographie le long de l'échantillon. Ces facteurs expliquent que les variations de ce proxy soient différentes selon les spéléothèmes. Les facteurs d'influence principaux semblent donc plutôt être des facteurs spécifiques à l'écoulement plutôt que des facteurs climatiques comme la

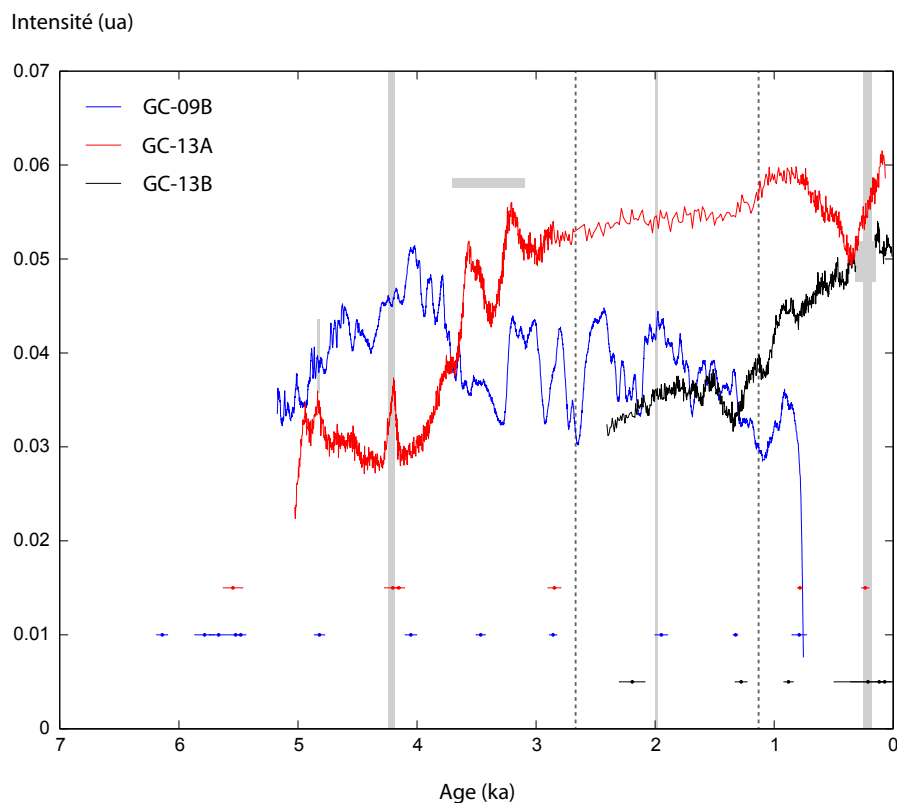


Figure 5.6 – Évolution des valeurs de l'intensité de fluorescence de la réflectance IR à 266 nm d'excitation au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés (courbes bleue = **GC-09B**, rouge = **GC-13A**, et noire = **GC-13B**). Les points en bas du graphique représentent les dates réalisées sur chacun des échantillons (selon le même code couleur) avec l'erreur associée à ces dates. Les traits pointillés gris symbolisent les hiatus et les zones grisées représentent les mesures influencées par la présence de fracture ou de prélèvements sur la zone de mesure.

quantité de pluie par exemple. La densité optique de la calcite, représentant une mesure de la cristallisation, ne sera donc pas utilisée par la suite étant donné que son signal n'est pas répliqué.

5.1.5 Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique

Comme expliqué dans le chapitre 3, les données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$ présentent des incertitudes liées à la mesure. Ces données pour les trois spéléothèmes sont comparées dans la figure 5.12. Sur les derniers 2000 ans, période durant laquelle les mesures sont disponibles pour les trois spéléothèmes, **GC-09B** et **GC-13B** montrent une tendance croissante des valeurs du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$. Cette similitude est valable en termes de tendance et non de pic-à-pic. Les

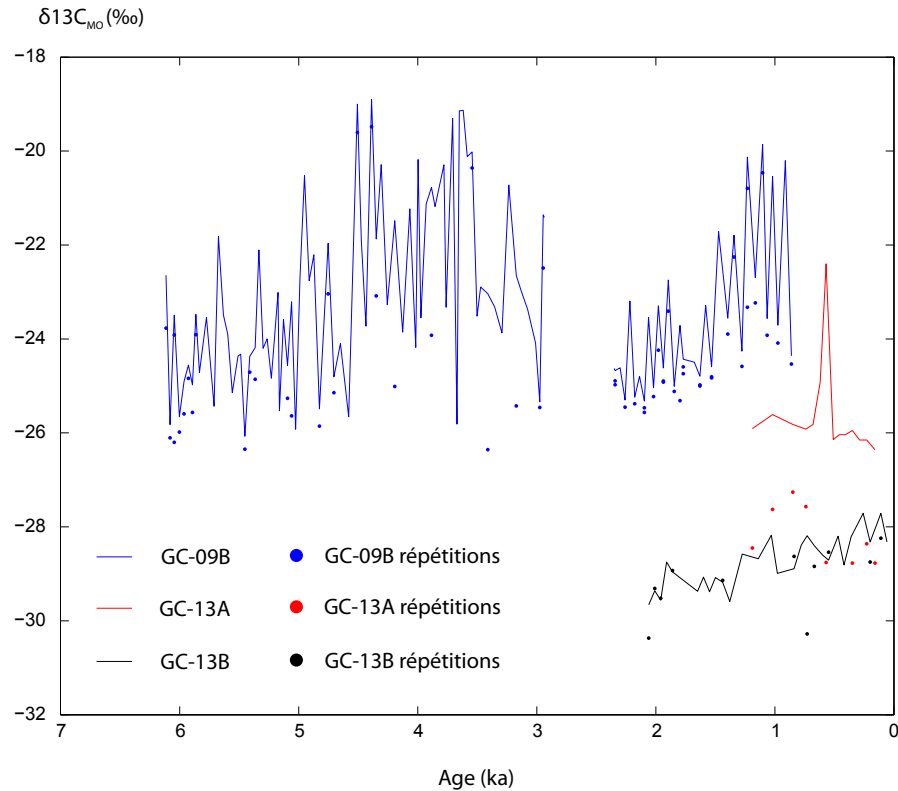


Figure 5.7 – Évolution des valeurs du $\delta^{13}C_{MO}$ (‰) au cours du temps pour les trois spéléothèmes étudiés (courbes bleue = **GC-09B**, rouge = **GC-13A**, et noire = **GC-13B**). Les points en couleur représentent les répétitions réalisées sur certains points de mesure (selon le même code couleur).

valeurs absolues ne coïncident pas mais ceci est probablement dû à des problèmes d'analyse, comme expliqué dans le chapitre 3. Étant donné l'écart entre les valeurs des mesures et des répétitions pour l'échantillon **GC-13A**, il est difficile d'exploiter les résultats de ce signal. Seule la tendance générale des courbes de **GC-09B** et **GC-13B** pourrait donc être utilisée avec précaution.

5.1.6 Les éléments trace

Les spéléothèmes ont été échantillonnés par Isabelle Couchoud pour l'analyse des éléments trace en ICPMS mais les chroniques n'étaient pas exploitables suite à des problèmes analytiques. Des nouvelles analyses ont été réalisées récemment et devraient être disponibles prochainement, ce qui permettra par la suite de les intégrer à l'interprétation réalisée dans ce manuscrit.

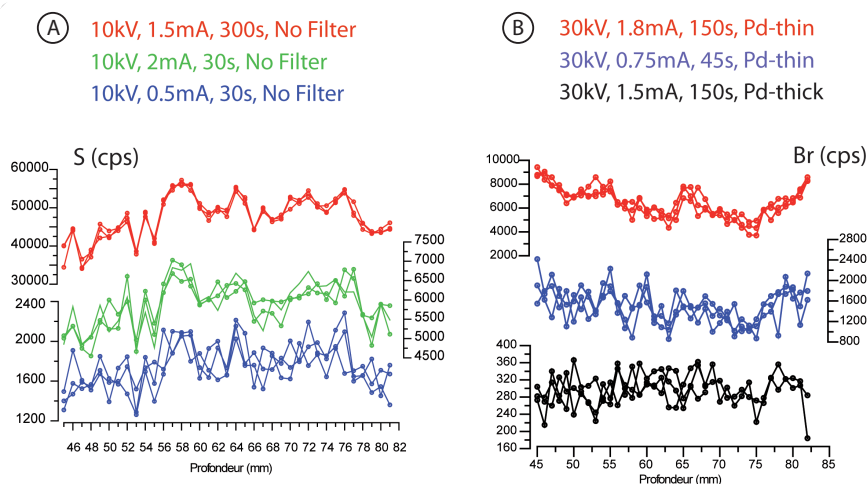


Figure 5.8 – Tests de différents paramètres analytiques (intensité, temps de mesure, filtre) des analyses en core-scanner XRF à 10 et 30 kV (respectivement A et B) pour optimiser la mesure des éléments trace dans les spéléothèmes. Calibrations optimales : 1,5 mA, 300 s pour l'analyse à 10 kV et 1,8 mA, 150 s, filtre Pd-Thin pour l'analyse à 30 kV.

Des essais ont été réalisés pour mesurer les éléments trace à l'aide du core-scanner XRF Avaatech disponible au laboratoire pour évaluer s'il était possible d'obtenir des mesures qualitatives des variations des éléments trace le long des spéléothèmes, en remplacement des données ICPMS. Cet appareil est actuellement très développé pour l'analyse haute-résolution des éléments trace sur les carottes sédimentaires lacustres (ex. [Giralt *et al.*, 2011](#); [Arnaud *et al.*, 2012](#); [Naeher *et al.*, 2013](#); [Bajard *et al.*, 2015](#)). Si cette technique n'est pas quantitative, elle présente en revanche l'avantage d'être non destructive. Du fait de la très forte teneur en calcium des spéléothèmes, un protocole de mesure a dû être développé. Ce développement a été réalisé au laboratoire EDYTEM avec Anne-Lise Develle et a fait l'objet d'un poster pour la conférence de l'Association de Sédimentologie Française en 2013 à Paris (Annexe page 268).

Ainsi, après optimisation de la mesure, seules les excitations à 10 et 30 kV offrent des résultats répliquables et permettent de mesurer les éléments Si, S, K, Ca, Ti, Fe, Br, Sr et Rb (figure 5.8). La concentration très importante en calcium en comparaison des autres éléments pose le problème d'extraction de l'aire des pics, qui est perturbée par celle du pic du Ca et des pics d'échappement. Un traitement du signal similaire à réaliser sur les spectres de fluorescence UV permettrait d'extraire les pics des éléments en modélisant le bruit de fond de l'appareil et les pics du Ca.

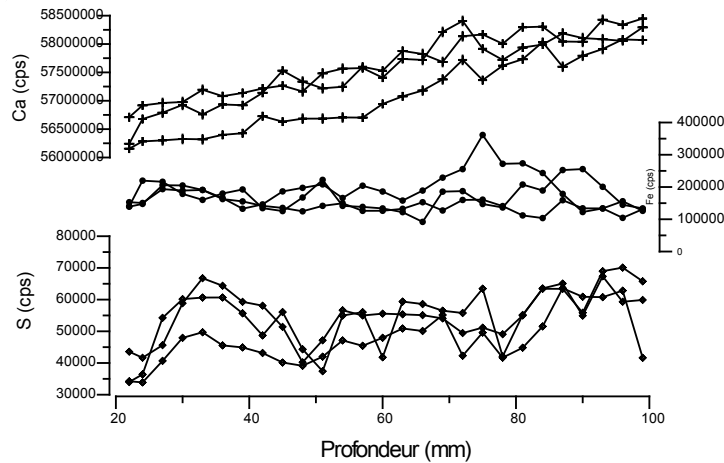


Figure 5.9 – Tests de réplication spatiale (pas latéral de 6 mm) des mesures des éléments trace par core-scanner XRF. Paramètres : 10 kV, 1,5 mA, 300 s, aire d'excitation = 6 mm, pas de 3 mm, décalage latéral entre les réplications de 6 mm.

Par ailleurs, des tests de réplication effectués latéralement sur le spéléothème montrent cependant que ce signal est difficilement répliquable spatialement (figure 5.9). Ceci peut être expliqué par les différences de concentration des éléments trace le long des lamines et par l'impossibilité de suivre la structure des lamines avec le capteur.

Enfin, une mesure réalisée directement sur tout le spéléothème présente des palliers importants dans la concentration en Ca, perturbant le signal des autres éléments. Ces palliers sont la résultante de la présence de trous de prélèvement dans la surface, qui modifient la lecture par le capteur. La mesure nécessite donc d'éviter les trous de prélèvement et de suivre au plus près l'axe de croissance. La découpe de la mesure en plusieurs mesures différentes ou l'utilisation d'une table de déplacement latéral pourrait permettre de limiter ces biais. Ces résultats sont donc prometteurs mais nécessitent encore une adaptation de la mesure et du traitement de données aux spéléothèmes.

La comparaison des trois spéléothèmes étudiés montre que certains indicateurs peuvent être utilisés pour extraire les informations paléoclimatiques et/ou environnementales au moins à l'échelle locale ($\delta^{18}\text{O}$, intensité de fluorescence), et que d'autres sont majoritairement influencés par des facteurs spécifiques à l'écoulement ($\delta^{13}\text{C}$, réflectance IR). Du fait de l'absence de résultats pour les analyses des éléments trace, les variations du $\delta^{18}\text{O}$ et de l'intensité de fluorescence seront essentiellement utilisées dans cette étude afin de reconstruire les variations paléoenvironnementales et climatiques sur le plateau de la Féclaz, durant la seconde moitié de l'Holocène.

5.2 Signal environnemental des stalagmites de Garde-Cavale

Suite aux comparaisons entre les différents spéléothèmes, deux indicateurs ont donc été choisis : l'intensité de fluorescence totale de la matière organique et le $\delta^{18}\text{O}$. Le premier est un indicateur paléoenvironnemental haute-résolution informant sur les variations de quantité de matière organique piégée dans les spéléothèmes au cours du temps (cf chapitre 4). Le ratio des fluorophores F2/F3 (λ_{em} 450/540 nm, λ_{exc} 266 nm) a été utilisé afin d'obtenir également une information sur les changements de qualité de la matière organique. Ce ratio représente la proportion de composés de faible poids moléculaire sur les composés à plus fort poids moléculaire (LMW/HMW). L'intensité de fluorescence des fluorophores F2 et F3 et leur ratio sont présentés uniquement pour l'échantillon **GC-09B**, étant donné que ces deux pics sont corrélés pour l'échantillon **GC-13B**.

Le rapport isotopique de l'oxygène de la calcite est un proxy utilisé fréquemment pour les reconstructions paléoclimatiques et environnementales (ex. [Bar-Matthews et al. , 1999](#); [Genty et al. , 2003](#); [Spötl et al. , 2006](#); [Drysdale et al. , 2007](#); [Griffiths et al. , 2010](#); [Wainer et al. , 2011](#)). Il est souvent associé aux variations de températures et/ou de quantité de précipitation et les principaux facteurs de contrôle de ce proxy sont résumés dans l'encadré page ???. Les hypothèses d'interprétation du $\delta^{18}\text{O}$ seront donc construites conjointement avec celles de l'intensité de fluorescence de la matière organique. L'interprétation paléoclimatique et environnementale retenue sera donc celle permettant de faire converger les hypothèses associées aux deux indicateurs.

Ainsi, l'enregistrement a été divisé en 4 phases majeures auxquelles il sera fait référence par la suite (figure 5.10) :

- Phase 1 : de 5100 à 3200 ans B.P.
- Phase 2 : de 3200 ans à 2050 ans B.P.
- Phase 3 : de 2050 ans à 850 ans B.P.
- Phase 4 : de 850 ans B.P. à aujourd'hui.

La distinction entre les phases 1 et 2 est basée sur le $\delta^{18}\text{O}$ et l'intensité de fluorescence alors que celles entre les phases 2 et 3 et entre les phases 3 et 4 sont basées sur une modification des variations d'un seul des indicateurs ; respectivement l'intensité de fluorescence et le $\delta^{18}\text{O}$. Par ailleurs, pour pouvoir être comparés avec les archives locales, les modèles d'âge ont été calés sur 1950 AD et les âges sont donnés en années B.P.

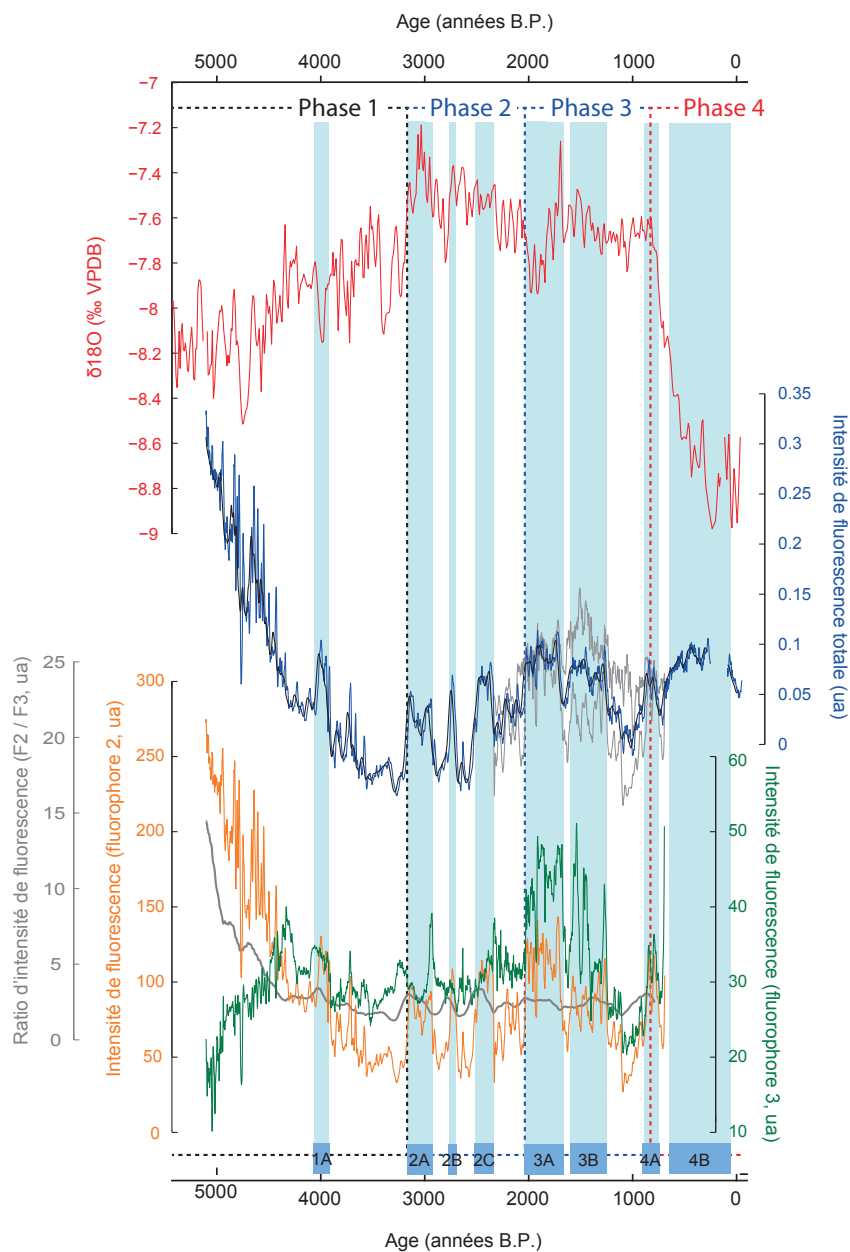


Figure 5.10 – Évolution de différents indicateurs en fonction du temps (ka B.P.) sur les 5500 dernières années. La courbe rouge représente le signal composite du $\delta^{18}\text{O}$ (‰ VPDB) construit à partir des échantillons **GC-09B** et **GC-13B**. La courbe bleue correspond au signal composite d'intensité de fluorescence totale (ua) construit à partir des variations des échantillons **GC-09B** et **GC-13B** (courbes grises) et lissé avec un pas de 100 ans (courbe noire). Les courbes orange et verte représentent respectivement les variations d'intensité de fluorescence des pics 1 et 2 (ua) pour l'échantillon **GC-09B** et dont le ratio (F_2/F_3) est représenté par la courbe grise superposée.

5.2.1 Notions pour la comparaison d'archives

Les interprétations obtenues ont également été comparées aux interprétations réalisées à partir d'archives locales ainsi qu'aux connaissances régionales des variations climatiques et environnementales de cette période. Les archives locales sont représentées par deux enregistrements sédimentaires lacustres (Lac du Bourget, [Arnaud *et al.* , 2012](#) pour la plus récente ; Lac de la Thuile, [Bajard *et al.* , 2015](#)) et un enregistrement sédimentaire de tourbe (Tourbière des Creusates, étudiée par Fernand David).

L'intérêt d'une comparaison avec de telles archives est de pouvoir re-situer l'interprétation réalisée dans un contexte local de changements climatiques et environnementaux. Cela offre également la possibilité de vérifier les interprétations réalisées et/ou d'identifier les périodes incohérentes ou moins bien définies. Toutes ces archives enregistrent les changements de végétation liés aux paramètres climatiques et/ou anthropiques.

L'étude de ces archives ne permet pas le même degré d'information et de résolution : 1) les proxies sont spécifiques à certaines archives, 2) les quantités de matériel et la nature de la matrice sédimentaire impliquent des techniques analytiques différentes pouvant modifier la robustesse des analyses et/ou la résolution obtenue et 3) la résolution même de l'enregistrement varie selon les archives. Par exemple, les pollens se retrouvent dans les trois types d'archives cités précédemment. Cependant, ils sont présents en très faible quantité dans les spéléothèmes ce qui diminue la résolution temporelle et la robustesse des résultats obtenus. En revanche, d'autres indicateurs comme le $\delta^{18}\text{O}$ sont des proxies très utilisés dans les spéléothèmes permettant des enregistrements à plus haute-résolution. Le couplage de plusieurs archives permet donc de rendre l'interprétation environnementale plus robuste.

Cependant, il est important de noter que si ces archives sont sensibles aux mêmes modifications environnementales et climatiques, elles peuvent y répondre de manière différente ou décalée. En effet, l'enregistrement des différentes archives est dépendant de la source des indicateurs qu'il contient, à savoir le bassin versant (ou l'aire d'alimentation). Les lacs et les spéléothèmes présentés ici diffèrent par la taille de leurs bassins versant et aire d'alimentation. Le lac du Bourget intègre par exemple des matériaux provenant des Préalpes mais également du massif du Mont-Blanc. Le lac de la Thuile ou les spéléothèmes de Garde-Cavale ne sont en revanche pas impactés par les dynamiques glaciaires de ce massif, et enregistrent les réponses du massif Préalpin aux variations climatiques.

Le type de transport des informations pédologiques aux archives peut induire une sensibilité différente de celles-ci aux paramètres climatiques et environnementaux. L'information pédologique est ainsi majoritairement transférée aux lacs par des mécanismes de ruissellement alors qu'elle est principalement apportée aux spéléothèmes par des mécanismes de percolation. L'information en résultant est donc différente puisque les lacs enregistrent principalement un signal d'érosion alors que l'information des spéléothèmes est plus continue. Le type de proxy (spécificité de l'information, de la réponse aux changements climatiques, du

transport et de la conservation dans les archives) ainsi que les mécanismes d'"alimentation" des archives peut donc entraîner l'enregistrement d'une réponse différente et/ou retardée aux changements paléoenvironnementaux et climatiques.

Enfin les spécificités liées à l'histoire des sites peuvent également rentrer en compte. Ceci est notamment vrai dans le cas des impacts anthropiques. Ainsi, deux sites peuvent avoir une histoire environnementale différente, qui se traduira par une information enregistrée hétérogène, ou par une sensibilité différente aux paramètres climatiques. Ces considérations doivent donc rester présentes lors de la comparaison des archives.

5.2.2 Phase 1 : de 5100 à 3200 ans B.P.

Cette phase est marquée par une décroissance importante et régulière de l'intensité de fluorescence totale (diminution d'environ 95% en 2000 ans) présentant des variations temporelles ponctuelles. Le $\delta^{18}\text{O}$ présente au contraire une tendance générale à l'augmentation (pente de 0,25).

5.2.2.1 Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation

Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ des trois spéléothèmes du réseau de Garde-Cavale varient entre -8,98 et -7,20‰ avec une valeur moyenne de -7,91‰ sur la seconde moitié de l'Holocène. Ces valeurs coïncident avec celles rapportées dans la littérature et sont marquées par l'effet d'altitude du site (McDermott *et al.*, 2011). Les variations correspondent en moyenne à +/- 0,36‰ par rapport à la valeur moyenne ce qui est cohérent avec les variations des spéléothèmes à ces latitudes durant la période Holocène (McDermott *et al.*, 2011). Sur cette première phase, les valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ présentent une augmentation régulière de 0,5‰ sur 2100 ans. Cette tendance croissante débute après 8200 ans B.P., d'après les mesures réalisées sur l'échantillon **GC-09A**, couvrant la première moitié de l'Holocène (figure 5.13).

Les différents facteurs de contrôle des variations du $\delta^{18}\text{O}$ sont résumés succinctement dans l'encadré suivant. Le signal de $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes alpins durant l'Holocène a été relié :

- aux variations des quantités de précipitation (McDermott *et al.*, 1999; Drysdale *et al.*, 2006; Zanchetta *et al.*, 2007);
- aux variations de températures (McDermott *et al.*, 1999; Wurth *et al.*, 2004; Frisia *et al.*, 2005; Boch *et al.*, 2009);
- aux variations de la proportion de recharge hivernale, liée aux changements de trajectoires des précipitations sous influence de l'Oscillation Nord Atlantique (NAO, North-Atlantic Oscillation) et des températures hivernales (Mangini *et al.*, 2005; Vollweiler *et al.*, 2006; Mangini *et al.*, 2007).

L'augmentation des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes de Garde-Cavale peut donc être associée à :

- à une diminution des quantités de précipitation (corrélation négative) ;
- à une augmentation de la température (corrélation positive) ;
- à une modification de la proportion de la recharge (augmentation de la proportion de la recharge estivale et/ou diminution de la proportion de la recharge hivernale).

Synthèse des facteurs d'influence du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite

?? Les valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes reflètent ([McDermott et al. , 1999](#); [McDermott, 2004](#); [Wurth et al. , 2004](#); [Lachniet, 2009](#); [Moreno et al. , 2014](#)) :

- le $\delta^{18}\text{O}$ des eaux d'écoulement ;
- les processus de fractionnement ayant lieu lors de la précipitation de la calcite.

Le $\delta^{18}\text{O}$ des eaux d'écoulement est contrôlé par ([McDermott et al. , 1999](#); [McDermott, 2004](#); [Wurth et al. , 2004](#); [Lachniet, 2009](#); [Moreno et al. , 2014](#)) :

- le $\delta^{18}\text{O}$ des eaux de pluie. Ces valeurs sont influencées par différents facteurs comme la source des précipitations, la distance à la source, le trajet, la latitude, l'altitude, la température de l'air, la quantité de précipitation.
- les processus de fractionnement modifiant le $\delta^{18}\text{O}$ des eaux de pluie avant infiltration. Il s'agit principalement des processus d'évaporation qui entraînent un enrichissement du $\delta^{18}\text{O}$ lorsque la balance des précipitations effectives est négative.
- les processus de fractionnement lors du transfert dans le karst (principalement les phénomènes d'évaporation).

Pour pouvoir discriminer les changements paléoclimatiques à l'origine de ces différentes phases, il est nécessaire de connaître la manière dont ces facteurs influencent le rapport isotopique de l'oxygène de la calcite. Étant donné la période temporelle couverte par les spéléothèmes et leur localisation dans les Alpes de l'Ouest, plusieurs facteurs peuvent être considérés comme négligeables. Ainsi, la diminution du $\delta^{18}\text{O}$ des sources océaniques résultant de la disparition des calottes glaciaires au début de l'Holocène a été estimé à seulement 0,3 ‰ entre 10 000 et 5000 ans B.P. ([Stuiver et al. , 1995](#)), et peut donc être considérée comme négligeable. Le changement de la température de la surface de la mer (SST pour Sea-Surface Temperature) durant l'Holocène est difficile à évaluer mais est généralement considéré comme constant à l'échelle de cette période ([McDermott et al. , 1999](#)).

Les facteurs de contrôle sont résumés ci-dessous principalement d'après la review de [Lachniet \(2009\)](#) et dans la figure 5.11 :

- la température des précipitations qui présente une corrélation positive avec les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ (en moyenne $+0,59\text{‰}$ / $^{\circ}\text{C}$ pour les sites européens ([McDermott et al. , 1999](#))) ;
- la quantité des précipitations ($\delta^{18}\text{O}$ inversement corrélé à la quantité de pluie, généralement observé en milieu tropical) ;
- la source des précipitations (effet de continentalité, $\delta^{18}\text{O}$ inversement corrélé à la distance à l'océan par exemple) ;
- l'évaporation depuis le sol ($\delta^{18}\text{O}$ corrélé positivement avec l'augmentation de l'évaporation influencée par la quantité d'eau infiltrée, la température et le type de végétation) ;
- le type de recharge (mélange d'eaux, saisonnalité de la recharge, évaporation, temps de transit, saturation de la solution) ;
- la température de fractionnement entre la calcite et l'eau qui présente une corrélation négative de $-0,24\text{‰}$ / $^{\circ}\text{C}$ à 10°C mais reste généralement inférieure à celle de l'eau de pluie ([McDermott et al. , 1999](#); [Williams et al. , 2005](#)) ; le $\delta^{18}\text{O}$ conserve donc une corrélation positive avec la température si cette dernière est le facteur de contrôle principal.

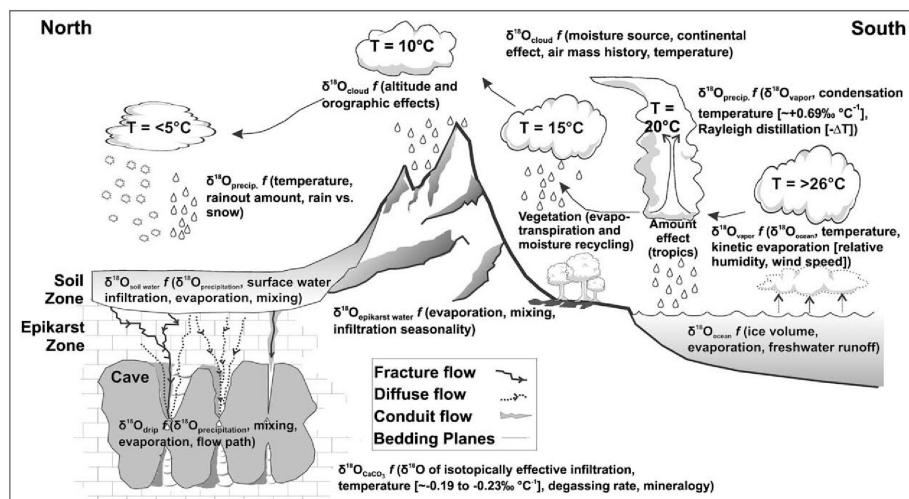


Figure 5.11 – Schéma représentant les différents processus pouvant influencer les variations du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes. f indique que la valeur du $\delta^{18}\text{O}$ est fonction des variables citées après ([Lachniet, 2009](#)).

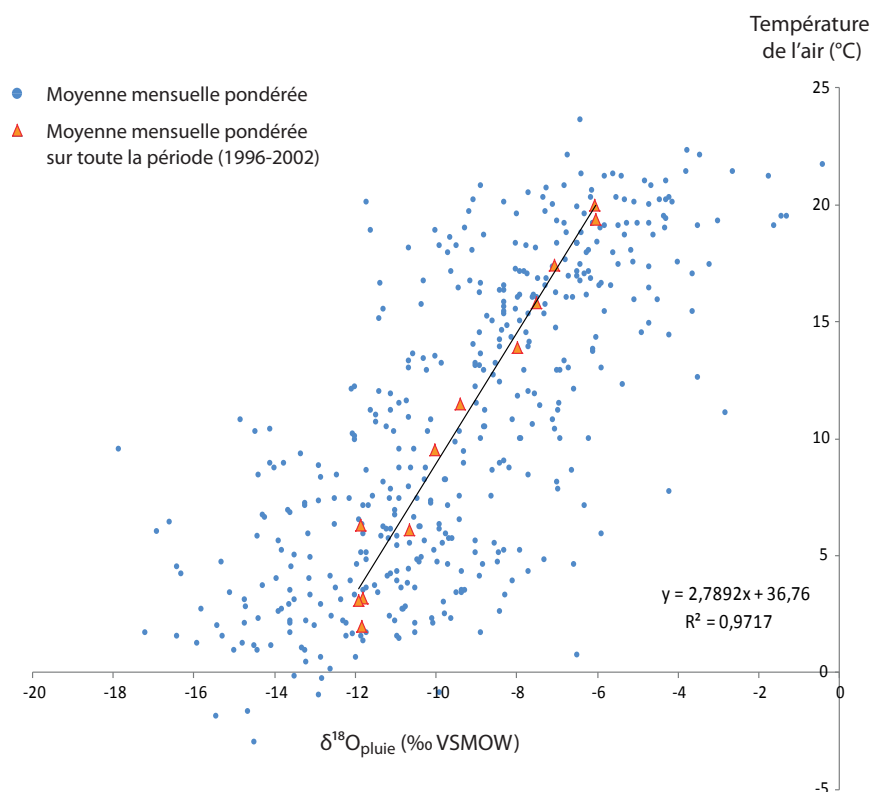


Figure 5.12 – Valeurs mensuelle pondérée du $\delta^{18}\text{O}$ des pluies en fonction de la température de l'air à la station IAEA de Thonon-les-Bains (données depuis [IAEA/WMO, 2015](#)).

Pour comprendre l'influence des divers paramètres climatiques sur les variations du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite, beaucoup d'études utilisent les relations entre le $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite moderne et des eaux d'écoulement, et les paramètres climatiques actuels (ex. [Frisia et al., 2005](#); [Verheyden et al., 2008](#); [Jex et al., 2010](#); [Wackerbarth et al., 2010](#); [Fairchild & Baker, 2012](#); [Moreno et al., 2014](#)). Les relations actuelles entre le $\delta^{18}\text{O}$ des pluies, la température, les quantités de précipitation, le $\delta^{18}\text{O}$ des eaux d'écoulement et de la calcite moderne peuvent ainsi renseigner sur la sensibilité du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes à différents facteurs climatiques. Ces données ne sont pas disponibles pour le site d'étude, mais le $\delta^{18}\text{O}$ des pluies, la température et les quantités de précipitation ont été enregistrés sur plusieurs années à la station GNIP de Thonon-les-Bains ([IAEA/WMO, 2015](#)). L'analyse des données montre que les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ mesurées ne sont pas corrélées à la quantité des précipitations. Cette relation semble alors peu probable pour expliquer les variations du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite.

Au contraire les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ sont corrélées positivement avec la température moyenne mensuelle interannuelle, de $0,35\text{‰} / ^\circ\text{C}$ ($R^2 = 0,97$). S'il on supprime l'effet inverse

du fractionnement de la calcite ($0,24\text{‰} / ^\circ\text{C}$), le $\delta^{18}\text{O}$ devrait varier de $0,11\text{‰} / ^\circ\text{C}$, ce qui est inférieur aux valeurs généralement rencontrées dans les études mais qui correspond aux valeurs observées par [Genty et al. \(2014\)](#) dans le sud-ouest de la France. Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ augmentent en moyenne de $0,76\text{‰}$ entre 7900 et 3000 ans B.P. ce qui signifierait une augmentation de $6,7^\circ\text{C}$ de la température sur cette période. Cette augmentation est bien supérieure à celle observée à l'Holocène après 8200 ans B.P. (entre 1 et 2°C , [Davis et al. , 2003](#)). Par ailleurs, certaines phases de réchauffement connues, comme l'optimum climatique romain (RWP, *Roman Warm Period*) et l'optimum climatique médiéval (MWP, *Medieval Warm Period*) sont marquées par des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ plus faibles (figure 5.10) ce qui indique que cette hypothèse n'est pas valable, au moins sur ces périodes.

Les mécanismes de recharge sont alors proposés ici comme facteurs de contrôle des variations du $\delta^{18}\text{O}$. Plusieurs études ont montré que les spéléothèmes alpins étaient fortement dépendants de la recharge hivernale ([Frisia et al. , 2003](#); [Mangini et al. , 2005](#); [Vollweiler et al. , 2006](#); [Mangini et al. , 2007](#); [Wackerbarth et al. , 2010](#)). Les variations de $\delta^{18}\text{O}$ ont ainsi souvent été associées aux proportions de la recharge hivernale. Une augmentation de la proportion de cette recharge entraîne une diminution du $\delta^{18}\text{O}$ enregistré par les spéléothèmes, du fait des valeurs plus négatives des précipitations hivernales par comparaison aux précipitations estivales ([Mangini et al. , 2005](#)). [Mangini et al. \(2005\)](#) calculent par exemple qu'une réduction de 8% de la proportion de la recharge hivernale entraînerait une hausse des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ de 1‰ . Une faible variation des proportions de recharge suffirait donc à engendrer la tendance observée dans les spéléothèmes de Garde-Cavale. Les données disponibles actuellement ne permettent pas de vérifier si la recharge hivernale est en effet la recharge principale des eaux d'écoulement alimentant ces spéléothèmes. Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ s'approchent de la moyenne annuelle de celles du $\delta^{18}\text{O}$ des précipitations enregistrées à Thonon-les-Bains, et l'évapotranspiration en été sur le plateau de la Féclaz est limitée (figure 2.2). Par ailleurs, la différence de quantité de précipitations hivernales et estivales est actuellement faible (cf chapitre 2). Les données disponibles ne permettent donc pas de favoriser l'hypothèse d'une recharge majoritairement hivernale. Cependant, quelque soit la saison participant principalement à la recharge, l'augmentation du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes de Garde-Cavale pourrait être associée à une modification des proportions de recharge estivale et hivernale.

L'augmentation de la recharge estivale et/ou la diminution de la recharge hivernale pourraient alors être expliquées par :

- une augmentation de la pluviométrie estivale ou une diminution de la pluviométrie hivernale ;
- un changement des sources de précipitations hivernales ;
- une modification du transfert de la recharge au système (évapotranspiration, diminution du transfert par mise en charge de drains).

À noter que le couvert forestier entraîne généralement l'enrichissement en ^{18}O des eaux s'infiltrant dans le sol du fait des mécanismes de fractionnement ayant lieu lors de l'interception par la canopée, et ce aussi bien en hiver qu'en été (Dewalle & Swistock, 1994; Koeniger *et al.*, 2008). Le développement du couvert forestier peut donc renforcer la tendance à l'augmentation des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$.

5.2.2.2 Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation

La phase 1 est caractérisée par une diminution importante de l'intensité de fluorescence totale. Celle-ci pourrait être expliquée par un changement de qualité vers des composés à plus haut poids moléculaire dont l'efficacité de fluorescence est plus faible (Baker & Genty, 1999; Perrette *et al.*, 2005). Ceci est consistant avec l'augmentation de l'intensité du fluorophore 3, représentant en effet des composés de plus haut poids moléculaire. Cependant, l'importante proportion du signal total expliquée par la diminution de l'intensité de F2 implique une diminution de la quantité de matière organique. Cette diminution peut être associée à :

- une diminution de la production, soit du fait de conditions climatiques défavorables, soit du fait d'une modification du couvert végétal ;
- une diminution du transfert, soit du fait d'une diminution de la pluviométrie, soit du fait d'une augmentation du stockage dans les sols.

Le processus impliqué dans le contrôle de ce signal est un processus limitant les flux de carbone sur une période de 2100 ans. La diminution du transfert engendrée par une diminution de la pluviométrie est donc peu probable sur une période de temps aussi longue, d'autant plus qu'elle est contradictoire avec la tendance vers des conditions plus humides observée à l'Holocène (Magny *et al.*, 2011). Par ailleurs, le ratio d'intensité F2/F3 montre un changement de qualité de la matière organique vers des composés plus lourds au moins jusqu'à 4300 ans B.P. L'augmentation de l'intensité de F3 peut difficilement être associée à une diminution de la pluviométrie notamment parce que ces composés sont considérés comme plus hydrophobes et donc plus difficilement transportables.

La diminution de matière organique transmise aux eaux d'écoulement peut être la résultante d'une dégradation climatique entraînant une diminution de la production végétale (donc de l'apport de matière au sol) et de l'activité microbienne. Le ralentissement de cette dernière est généralement associé à une diminution de la quantité de matière organique dissoute (MOD) du fait de la diminution des réorganisations moléculaires liées aux processus biotiques, pouvant expliquer la diminution d'intensité de fluorescence totale.

Le décalage bathochromique de l'émission de fluorescence (vers le rouge) a été considéré comme un marqueur de la diminution du taux de décomposition, et donc de conditions climatiques moins favorables, dans certaines études réalisées sur des tourbières ou des sols organiques (Baker & Genty, 1999). Sur ces types de sols, l'horizon organique est directement en contact avec le substrat, et les processus liés au transport et aux modifications dans

les horizons profonds ne sont pas ou peu mis en jeu. Cependant, sur des sols bien développés avec un horizon minéral, ces composés sont moins facilement transportés et subissent des modifications biotiques et abiotiques (ex. : sorption, complexation, coagulation, flocculation, encapsulation, intercalation, aggrégation, dégradation microbienne) dans les horizons profonds. Une faible proportion de composés peu modifiés est donc transportée en profondeur dans le sol où d'autres processus comme l'adsorption ou la dégradation microbienne modifient leur structure ([Semenov *et al.*, 2013](#); [Kaiser & Kalbitz, 2012](#)). Les composés plus hydrophobes mesurés dans les spéléothèmes de Garde-Cavale correspondraient donc plutôt à de la matière organique plus "âgée", ayant subi plusieurs transformations au cours du temps.

La diminution du transfert de matière organique sur 2100 ans peut être interprétée par des processus pédogénétiques et par le turnover de la matière organique dans les horizons profonds. La pédogénèse est un processus progressif de l'ordre d'une centaine à plusieurs milliers d'années associé aux successions végétales. Les mouvements de carbone organique dissous dans le sol sont un des plus importants mécanismes impliqués dans la formation des sols ([Neff & Asner, 2001](#); [Kaiser & Kalbitz, 2012](#)). La formation de complexes organo-minéraux favorise le flux des constituants du sol en profondeur, facilitant la différenciation des horizons ([Drever & Vance, 1994](#)). Celle-ci est favorisée par la présence d'un couvert forestier dont la forte production d'acides organiques résultant de la dégradation du matériel végétal entraîne la rupture des associations supramoléculaires stockées en surface, qui peuvent alors être transportées vers les horizons plus profonds ([Simpson, 2002](#)). Le développement des horizons minéraux augmente les processus de sorption, et donc la stabilisation de la matière organique. D'après le modèle conceptuel de [Kaiser & Kalbitz \(2012\)](#), le transfert de la MOD en profondeur s'accompagne d'une diminution des flux à laquelle sont associés des processus biotiques et abiotiques, entraînant la stabilisation et le relargage de composés organiques au cours du temps. Le développement des horizons minéraux entraînerait une augmentation de ces mécanismes et diminuerait alors la quantité de matière arrivant au spéléothème. Ce concept concorde avec le modèle décrivant les acides humiques comme des associations supramoléculaires puisqu'il met en jeu des réorganisations successives de ces associations.

Par ailleurs, les mécanismes successifs de sorption/désorption ajoutés aux processus microbiens tout au long de ce transfert modifient la structure des composés organiques. En effet, les composés plus petits étant plus flexibles dans leur réarrangement moléculaire et utilisés préférentiellement, l'activité biologique augmente la proportion de composés plus hydrophobes et la taille des structures supramoléculaires ([Maia *et al.*, 2008](#)), comme observé à travers l'augmentation de l'intensité du fluorophore 3. Ceci est accentué par les conditions anaérobies souvent présentes dans les horizons profonds et qui favorisent la formation de composés hydrophobes ([Semenov *et al.*, 2013](#)). De plus, le développement d'un couvert forestier augmente la quantité initiale de composés plus hydrophobes dans la litière, et ce d'autant plus dans le cas des couverts résineux ([Thuille & Schulze, 2006](#)). L'aug-

mentation de l'intensité de F3 est donc représentative de l'augmentation des interactions biotiques et abiotiques dans les horizons minéraux, avec le développement des sols.

Le développement des sols sous couvert forestier paraît alors un facteur de contrôle permettant d'expliquer à la fois l'augmentation du signal des composés plus hydrophobes, et la diminution du transfert de matière organique vers le système. La stabilisation de l'intensité du fluorophore 3 autour de 4300 ans B.P. implique l'atteinte d'un état d'équilibre pédologique où le turnover de la matière organique dans les horizons profonds est contrebalancé par les taux de dégradation et de production. Par ailleurs, le stockage *via* la stabilisation de la matière organique dans les horizons profonds n'est pas un mécanisme infini et atteint un optimum (Guggenberger & Kaiser, 2003; Kalbitz & Kaiser, 2008). Une dégradation climatique limitant les activités végétales et microbiennes peut également stabiliser ce signal d'intensité en limitant la production de ce type de composé et son transfert par le ralentissement des processus biotiques.

5.2.2.3 Un optimum climatique et pédologique

Le signal d'intensité de fluorescence des spéléothèmes de Garde-Cavale sur cette période reflète les processus de développement pédologique. Ceci est également observé dans plusieurs enregistrements sédimentaires lacustres alpins dont le signal en provenance du bassin versant est marqué par un développement des sols après 8000 ans B.P. (Giguet-Covex *et al.*, 2011; Arnaud *et al.*, 2012; Simonneau *et al.*, 2013; Bajard *et al.*, 2015). Au lac du Bourget par exemple, l'apport de matériaux altérés augmente alors que l'apport terrigène reste limité ce qui est interprété comme la formation active de sols dans les bassins versants alpins (Arnaud *et al.*, 2012, figure 5.15). Ces études font état d'un optimum pédologique entre 7400 et 5700 ans B.P. L'enregistrement pollinique de la tourbière des Creusates sur le plateau Revard-Féclaz réalisé par Fernand David suggère également la présence d'un couvert forestier, majoritairement composé de sapin, jusqu'à 3800 ans B.P. Cette végétation est similaire à celle observée à l'étage montagnard dans plusieurs sites des Alpes françaises du Nord (David, 1995; David *et al.*, 2000).

Ces évolutions environnementales sont permises par des conditions climatiques favorables comme suggéré par l'altitude élevée de la limite des arbres (Nicolussi *et al.*, 2005) ou la récession importante des glaciers, quasiment continue jusqu'à 5800 ans B.P. pour le glacier Upper Grindelwald par exemple (Luetscher *et al.*, 2011) entre 9000 et 5000 ans B.P. Dans les Alpes nord-occidentales, les archives lacustres présentent un taux de détritisme et des niveaux de lacs faibles de 9400 à 4500 ans B.P. (Magny *et al.*, 2011; Arnaud *et al.*, 2012; Bajard *et al.*, 2015). Cette période est donc décrite comme une période chaude et/ou sèche, caractérisée par l'activité hydrologique la plus faible de tout l'Holocène.

5.2.2.4 Forçage orbital et refroidissement global du climat

La phase 1 est également marquée par la tendance croissante des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$, observée depuis 8200 ans B.P. (figure 5.13). Les changements temporels de l'ordonnée à l'origine des régressions linéaires, réalisées sur les chroniques holocènes des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ de spéléothèmes européens, montrent la même tendance (McDermott *et al.*, 2011) : une augmentation progressive avant une rupture entre -4000 et -3000 ans. Dans les Alpes, cette tendance est également observée dans l'enregistrement COMINSPA II (Fohlmeister *et al.*, 2013) réalisé à partir de plusieurs spéléothèmes du réseau de Spannagel (Alpes autrichiennes). Cette similarité avec divers enregistrements implique un facteur de contrôle climatique global.

Le forçage orbital est souvent considéré comme le forçage dominant à l'échelle de l'Holocène (Wanner *et al.*, 2008; Fischer & Jungclauss, 2011; Fairchild & Baker, 2012). McDermott *et al.* (2011) proposent l'influence de l'insolation sur les sources des précipitations atlantiques pour expliquer la tendance de $\delta^{18}\text{O}$ observée. Une valeur de $\delta^{18}\text{O}$ faible dans l'enregistrement des spéléothèmes de Spannagel est associée à une réduction de la recharge hivernale lors d'hivers plus froids et secs, ou à l'augmentation des sources de précipitation Nord-Atlantiques (Mangini *et al.*, 2005). La tendance croissante des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ observée sur les derniers 6000 reflèterait donc un refroidissement associé à une diminution des pluviométries hivernales et/ou à une proportion du flux de précipitations Nord-Atlantique réduit. Ceci est consistant avec les modélisations de l'impact du forçage orbital montrant une tendance au refroidissement en hiver sous l'impact des circulations atmosphériques de type NAO (Lorenz *et al.*, 2006; Wanner *et al.*, 2008). Wanner *et al.* (2008) montrent dans leur review une tendance vers un indice NAO plus négatif entre 6000 et 2000 ans B.P.

Dans les Alpes du Nord-Ouest, un indice NAO négatif est associé à des hivers plus froids mais plus humides (Chapron *et al.*, 2002). Ceci laisse penser que, comme suggéré à Spannagel (Mangini *et al.*, 2005), l'effet de source des précipitations se surimpose à celui de la saisonnalité de la recharge ; les phases NAO négatives étant caractérisées par un flux Nord-Atlantique plus faible. Cependant, la variabilité des précipitations hivernales durant l'Holocène est très peu documentée et il reste difficile de déterminer la prépondérance de ces facteurs. L'enregistrement COMINSPA II présente par ailleurs une forte variabilité des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ à court terme contrairement à l'enregistrement des spéléothèmes de GC (figure 5.13). Ceci suggérerait qu'il est moins sensible à la variabilité climatique hivernale.

Un refroidissement à long terme des températures estivales (Naughton *et al.*, 2007; Seppä *et al.*, 2009), y compris dans les Alpes (Heiri *et al.*, 2015), résulte de la diminution de l'insolation estivale. Plusieurs reconstructions des températures estivales dans les Alpes montrent ainsi une décroissance progressive sur cette période (Ilyashuk *et al.*, 2011; Heiri *et al.*, 2015). Les enregistrements basés sur plusieurs proxies différents du Jura, des Alpes suisses et autrichiennes, et de Toscane montrent une tendance similaire à l'échelle multi-

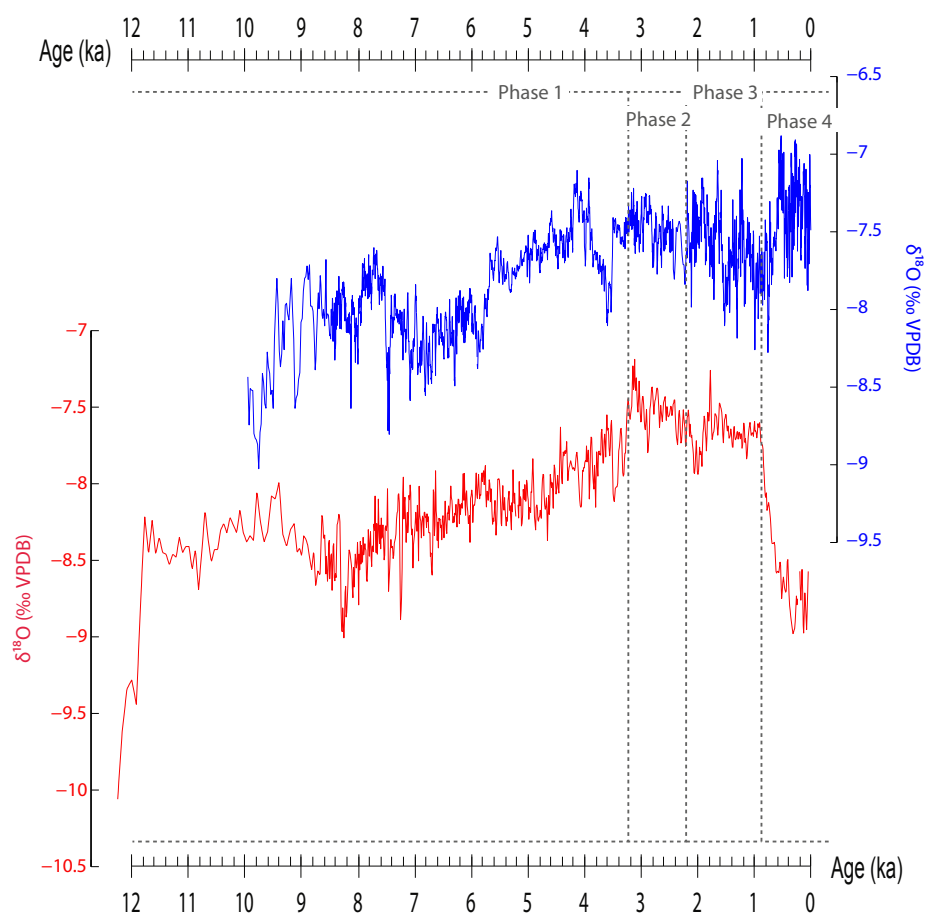


Figure 5.13 – Comparaison des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ (‰ VPDB) des enregistrements composites des stalagmites de Spannagel (courbe bleue) et de Garde-Cavale (courbe rouge) sur toute la période Holocène.

millénaire reflétant l'impact de l'insolation estivale (Magny *et al.*, 2011). L'augmentation graduelle des niveaux des lacs au cours de l'Holocène, comme ceux du lac Cerin (figure 5.15) et du lac Accesa par exemple (Magny *et al.*, 2011), est associée à une diminution de la température, et notamment des températures estivales, ainsi qu'à une augmentation du bilan hydrique (Magny *et al.*, 2003a). Les étés froids et humides suggérés par l'augmentation des niveaux de lac (Magny, 1993) peuvent également entraîner la diminution des processus d'évapotranspiration et l'augmentation de la proportion de recharge estivale, amplifiant la tendance d'augmentation des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$.

5.2.2.5 L'absence d'empreinte de la dégradation Néoglaciale

Dans les Alpes, la phase Néoglaciale, caractérisée par une dégradation des conditions climatiques généralement plus froides et plus humides, s'amorce à partir de 5500 ans B.P. (Deline & Orombelli, 2005; Magny *et al.*, 2006; Wanner *et al.*, 2011). Au lac du Bourget, une première période d'augmentation du flux détritique entre 5700 et 5400 ans B.P. marque le début de cette période de dégradation. Cependant, un changement climatique abrupt est plus généralement marqué dans les Alpes entre 4500 et 4000 ans B.P., autour de l'évènement 4.2. Il représente une transition vers des conditions plus humides caractérisées régionalement par l'augmentation des niveaux de lacs (Magny *et al.*, 2011), un changement des flux érosifs (Arnaud *et al.*, 2012; Simonneau *et al.*, 2013; Bajard *et al.*, 2015), les avancées glaciaires (Haas *et al.*, 1998; Joerin *et al.*, 2006) ou encore les modifications de l'altitude de la limite des arbres (Nicolussi *et al.*, 2005). De même, les reconstructions des températures estivales basées sur les chironomes indiquent une diminution autour de 4000 ans B.P. (Heiri *et al.*, 2003; Heiri & Lotter, 2005). Dans les Bauges, le lac de la Thuile présente une augmentation des apports terrigènes et du taux de matière organique à partir de 4500 ans B.P. (figure 5.16), coïncidant avec l'augmentation régionale des processus érosifs marquant l'entrée dans la phase Néoglaciale.

Les signaux de $\delta^{18}\text{O}$ et d'intensité de fluorescence des spéléothèmes de GC ne présentent pas de rupture marquée à cette période. L'intensité de fluorescence totale augmente légèrement lors de la période 1.B autour de 4000 ans B.P. (figure 5.15), coïncidant avec une augmentation du détritisme au Bourget (période E). Une légère diminution des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ est également observée sur cette période, suggérant une augmentation des précipitations hivernales, entraînant une augmentation du flux de matière organique dans les sols et un appauvrissement des eaux d'écoulement en ^{18}O . La réponse du signal de fluorescence à GC est très limitée en comparaison des changements des tendances érosives observées à la Thuile.

Par ailleurs, la stabilisation de l'intensité du fluorophore 3 à partir de 4300 ans B.P. a été associée à l'atteinte d'un équilibre pédologique. Cependant, une dégradation climatique limitant la production végétale et microbienne pourrait également favoriser la stabilisation des composés plus lourds.

Le signal de $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes de Garde-Cavale ne présente aucun changement majeur avant 3200 ans B.P. Il diffère donc sur ce point de celui des archives lacustres locales sur cette période (Arnaud *et al.* , 2012; Bajard *et al.* , 2015). De même, les changements de végétation observés à la tourbière des Creusates à 3800 ans B.P. et caractérisés par une diminution de la proportion de pollens de sapin au profit de l'épicéa et du hêtre (David, données non publiées) ne semblent pas marqués dans les spéléothèmes de Garde-Cavale. L'installation de l'épicéa (*Picea abies*) au détriment du sapin est souvent associé à un impact anthropique ; l'occurrence plus élevée des feux et la déstabilisation des sols défavorisant le sapin (Wick *et al.* , 2003). Ceci signifie que l'histoire environnementale à la Féclaz diffère de celle enregistrée à la tourbière des Creusates ou que les perturbations du sol ne sont pas assez importantes pour être enregistrées dans les spéléothèmes.

À l'échelle globale, le changement climatique rapide défini par Mayewski *et al.* (2004) entre 4200-3800 ans B.P. est considéré comme moins marqué que celui entre 3500 et 2500 ans B.P. Dans les Alpes en effet, le premier est caractérisé par l'avancée de nombreux petits glaciers ; les plus grands systèmes ne présentant pas d'extension (Ivy-Ochs *et al.* , 2009). En revanche, le second est associée à une phase d'avancée glaciaire majeure ; les phases de récession devenant plus courtes à partir de cette période (Joerin *et al.* , 2006; Ivy-Ochs *et al.* , 2009). Le signal du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes de Garde-Cavale ayant été relié à un forçage climatique plus global, ceci explique que le changement autour de 4200 ans B.P. soit peu marqué et que le signal réponde de manière plus évidente au changement climatique à 3500-2500 ans B.P.

5.2.3 Phase 2 : de 3200 ans à 2050 ans B.P.

Cette phase est marquée par une rupture très nette avec la phase précédente, à la fois dans le signal du $\delta^{18}\text{O}$ comme celui de l'intensité de fluorescence totale (figure 5.10). Le premier marque en effet un arrêt de sa tendance croissante et présente un plateau très légèrement décroissant, dont les valeurs sont les plus élevées de l'Holocène (-7,5‰ en moyenne). L'intensité de fluorescence totale présente une tendance générale à l'augmentation et est caractérisée par une modification du type de variations. Celles-ci montrent une amplitude plus importante et perdurent sur une plus longue période (entre 100 et 200 ans par exemple, pour les pics d'intensités entre 2350 et 3200 ans B.P.).

5.2.3.1 Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation

Entre 3200 et 2050 ans B.P., les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ marquent une tendance légèrement décroissante, présentant toutefois les valeurs les plus élevées de l'Holocène. Elles reflètent donc une rupture liée à un changement de conditions contrôlant le signal, ou bien à l'influence d'un second facteur venant contre-balancer la tendance de la phase 1. Si les variations des proportions de recharge saisonnières restent le facteur de contrôle principal, les valeurs élevées peuvent être expliquées par une recharge estivale plus importante et/ou une recharge hivernale plus faible. Ceci implique des étés plus humides ou des hivers plus secs.

La rupture de la tendance croissante et la stabilisation des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ peut être attribuée à une balance des recharges estivales et hivernales, supportée par la similarité des insolation saisonnières (Nussbaumer *et al.*, 2011). Une inversion des circulations atmosphériques et du type de sources de précipitation, ou de la tendance de la température hivernale pourrait engendrer ce type de modification.

En effet, la recharge hivernale s'effectue principalement au moment de la fonte, puisque les précipitations hivernales ont lieu majoritairement sous forme solide. Lors de cet épisode, d'importants volumes d'eau sont mis en jeu. Cependant, des traçages ont mis en évidence la présence de circulations à l'interface sol-roche, impliquant une circulation latérale des eaux d'écoulement et limitant fortement le transfert vers le système karstique puisque le traceur n'a pas été retrouvé à l'exutoire de la Doria (Wilhelm, 2007). Ceci implique qu'une grande part de l'épisode de fonte n'est pas transférée vers la cavité (figure 5.14, a). En revanche, des températures hivernales plus élevées entraîneraient une augmentation du transfert des précipitations hivernales vers le système karstique, et donc des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ plus négatives (figure 5.14, b) du fait de :

- l'augmentation des précipitations sous forme liquide ;
- de la diminution de la proportion de la fonte du couvert nival et de sa segmentation dans le temps en réponse aux variations de température.

Cette stabilisation peut également être causée par l'influence d'un second facteur modifiant le transfert de la recharge saisonnière au système. Un changement de végétation peut également entraîner une diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$. Le couvert végétal est l'un des facteurs de contrôle déterminant des processus d'accumulation et de fonte du couvert nival (Schelker *et al.*, 2013). En effet, le couvert forestier limite la quantité de neige au sol du fait des processus de sublimation et d'interception par la canopée (Varhola *et al.*, 2010; Schelker *et al.*, 2013). Ces processus peuvent ainsi entraîner une réduction jusqu'à 40 à 60% des précipitation neigeuses au sol (Varhola *et al.*, 2010). Un changement vers un système prairial entraîne une augmentation de la quantité de neige au sol, mais également des variations de température au sol, et donc de la sensibilité du couvert nival (Schelker *et al.*, 2013; Liptzin & Seastedt, 2009). Sous couvert prairial, la période de fonte est

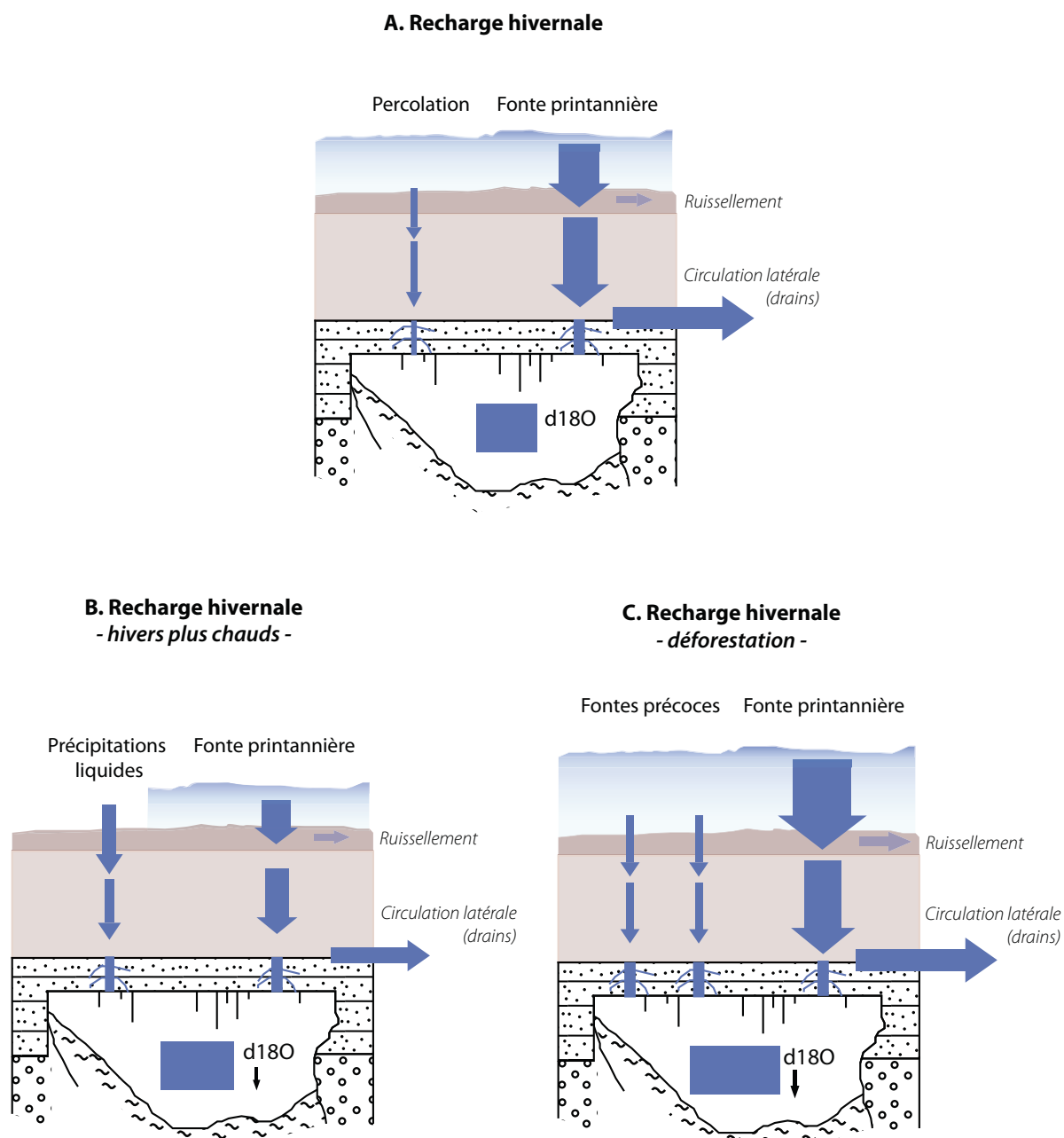


Figure 5.14 – Schéma d'hypothèses des flux d'eau hivernaux à la Salle du Précieux (A) et leurs impacts supposés sur la valeur du $\delta^{18}\text{O}$ des eaux d'écoulement en fonction des changements de température (B) ou d'occupation des sols (C).

généralement plus précoce et fractionnée dans le temps du fait des variations de températures (Murray & Buttle, 2003; Liptzin & Seastedt, 2009). La multiplication de plusieurs petits phénomènes de fonte limite la mise en charge des circulations latérales et induit un transfert de la recharge plus important (figure 5.14, c). Par ailleurs, le mécanisme de sublimation entraîne un enrichissement important en ^{18}O du couvert nival. Koeniger *et al.* (2008) observent ainsi un enrichissement de 2‰ entre le site forestier et le site prairial. La diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ peut donc être liée à une diminution du couvert forestier via les processus :

- de diminution de la sublimation ;
- d'augmentation de la proportion de recharge hivernale, avec l'augmentation de la quantité de neige au sol, et celle du transfert par segmentation temporelle de la fonte.

5.2.3.2 Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation

Le signal de l'intensité de fluorescence totale montre par une rupture du mode de variation. L'intensité du fluorophore 3 reste relativement stable depuis 4300 ans, et ce jusqu'à 2050 ans B.P. (figure 5.10). Cette stabilisation est associée à un équilibre pédologique. Les variations d'intensité du fluorophore 2 sont majoritairement responsables de celles de l'intensité totale et présentent des phases d'augmentation entre 3180 et 2930 ans B.P., à 2740 ans B.P. et entre 2530 et 2340 ans B.P. (périodes 2.A, 2.B et 2.C dans la figure 5.10). Celles-ci pourraient être associées à :

- une augmentation des précipitations ;
- une augmentation de l'activité végétale et microbienne liée à des conditions climatiques plus favorables.

Dans le premier cas, l'augmentation de la pluviométrie entraînerait une accentuation des flux de matière organique dissoute avec les flux d'eau.

Dans le second cas, comme l'humidité n'est pas un facteur limitant sur ce site d'étude, les variations d'intensité pourraient être influencées par une augmentation des températures, entraînant une augmentation de la productivité. Ceci favorise à la fois les processus de dégradation en surface qui augmentent la proportion de MOD, et les remaniements des associations organiques plus en profondeur (Kalbitz *et al.*, 2000; Conant *et al.*, 2011). Les acides organiques produits par l'activité bactérienne permettent par exemple la désagrégation des associations organiques (Simpson, 2002) et la température modifie également la dynamique des mécanismes abiotiques (Conant *et al.*, 2011). Ce changement permet donc un brassage et un renouvellement des stocks de matière organique, et favorise son exportation. Ces processus peuvent également être renforcés par l'humidité qui favorise aussi l'activité microbienne.

Le sol ayant atteint un équilibre pédologique, les conditions climatiques, en particulier la pluviométrie et la température, deviendraient des facteurs de contrôle dominants du flux de matière organique et pourraient expliquer les variations de l'intensité de fluorescence totale. Cependant, une ouverture du milieu, anthropique ou non, peut également être responsable d'une augmentation de l'intensité de fluorescence. Elle peut entraîner un remaniement des horizons de surface favorisant un transfert plus rapide de la matière organique dissoute après déstabilisation. L'installation d'un couvert prairial entraîne généralement une augmentation de la proportion des composés plus légers ([Chantigny, 2003](#)), ce qui pourrait expliquer les variations observées.

5.2.3.3 Interprétation

Cette phase est caractérisée par des valeurs élevées et légèrement décroissantes du $\delta^{18}\text{O}$ dans les spéléothèmes étudiés, jusqu'à 850 ans B.P. La rupture de la tendance croissante s'observe dans la compilation du signal de $\delta^{18}\text{O}$ de plusieurs spéléothèmes européens réalisés par [McDermott et al. \(2011\)](#) et dans l'enregistrement composite des spéléothèmes alpins de la grotte de Spannagel. Ce dernier montre une rupture autour de -3500 ans, suivie par une tendance décroissante des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ jusqu'à -700 ans environ ([Fohlmeister et al. , 2013](#), figure 5.13). Ce changement est cohérent avec la faible inversion de la tendance des indices NAO après 2000 ans B.P. ([Wanner et al. , 2008](#)). Ceci indique que la rupture de tendance du $\delta^{18}\text{O}$ répond à un changement global du climat. Cette phase est interprétée par des conditions climatiques hivernales plus froides et plus sèches par rapport au reste de l'Holocène, ayant tendance à se réchauffer. La relation avec la NAO implique au contraire des hivers humides, en lien avec les avancées glaciaires à cette période, suggérant également une prépondérance de l'effet de source des précipitations, associée au type de circulation atmosphérique.

De même que pour la phase 1, les étés sont interprétés comme plus froids et plus humides. Cette hypothèse est appuyée par les niveaux de lacs plus élevés depuis 4500 ans B.P. et la diminution des températures estivales ([Heiri et al. , 2003, 2015](#)). La reconstruction réalisée au lac Schwarzsee notamment montre une stabilisation des températures estivales à des valeurs faibles à partir de 3200 ans B.P. ([Ilyashuk et al. , 2011](#)). Cette tendance vers des étés plus froids et plus humides pourrait également contribuer à amplifier les valeurs élevées du $\delta^{18}\text{O}$.

L'intensité de fluorescence totale présente trois pics entre 3180 et 2930 ans B.P., à 2740 ans B.P. et entre 2530 et 2340 ans B.P. (respectivement périodes 2.A, 2.B et 2.C, figure 5.15 b). Ces pics sont interprétés comme une phase chaude ou une phase humide. Le choix de l'une ou l'autre de ces hypothèses s'appuie donc sur la comparaison avec d'autres enregistrements alpins. À partir de 3300 ans, le nombre et la durée des phases de retrait glaciaire dans les Alpes deviennent beaucoup plus faibles ([Joerin et al. , 2006](#)). Dans les Alpes de l'Ouest, le détritisme au lac du Bourget est caractérisé par un flux terrigène faible jusqu'à 2800 ans B.P. à partir de quand il est multiplié par 4 en seulement 1000 ans.

Cette période est associée à un renforcement de l'érosion physique des bassins subalpins (Arnaud *et al.* , 2012). Ainsi, la période entre 2800 et 2300 ans B.P. à l'échelle régionale se distingue par une augmentation des niveaux des lacs (Magny, 2004; Magny *et al.* , 2007, 2011) coïncidant avec l'avancée de plusieurs glaciers (Holzhauser *et al.* , 2005; Guyard *et al.* , 2013; Le Roy *et al.* , 2015).

Une phase de haut niveau lacustre au lac Cerin (Magny *et al.* , 2011), des phases d'avancées glaciaires enregistrées au lac Bramant (Guyard *et al.* , 2013) et à la Mer de Glace (Le Roy *et al.* , 2015), ainsi que plus localement des phases d'apport terrigène important (C2 et C1) et une diminution drastique de la concentration en miliacine (2750 ans B.P.) au lac du Bourget (Arnaud *et al.* , 2012) sont contemporaines des phases 2.B et 2.C du signal de fluorescence (figure 5.15). L'augmentation de l'intensité de fluorescence est donc probablement associée avec une intensification des précipitations correspondant à une période plus froide et plus humide suggérée par les archives locales. Ceci est également cohérent avec la review de (Wanner *et al.* , 2011) sur les événements froids durant l'Holocène et l'abandon des installations lacustres après 2800 ans B.P. dans la région (Marguet *et al.* , 2008).

En revanche, le pic d'intensité de fluorescence totale entre 3180 et 2930 ans B.P. est moins clairement associé à une phase de dégradation climatique. En effet, cette période n'est pas caractérisée par une phase d'augmentation des niveaux de lac (Magny, 2004; Magny *et al.* , 2011) et le taux de détritisme au lac du Bourget et au lac Bramant est faible, indiquant donc une activité hydrologique faible (Arnaud *et al.* , 2012; Guyard *et al.* , 2013).

Au lac de la Thuile, la végétation est marquée par un début d'augmentation des Poacées et de *Plantago sp.* après 3300 ans B.P., semblant indiquer une première ouverture du milieu (Bajard *et al.* , 2015). Cet impact anthropique est enregistré localement (Jacob *et al.* , 2008, 2009; Arnaud *et al.* , 2012) et à l'échelle régionale (Simonneau *et al.* , 2013; Tinner *et al.* , 2003). Cette période est caractérisée par la réimplantation d'habitats littoraux autour des lacs de Paladru et Bourget (Marguet *et al.* , 2008; Simonneau *et al.* , 2013), et le développement des cultures observés à partir de traceurs de l'érosion des sols et de plantes cultivées (Jacob *et al.* , 2009; Simonneau *et al.* , 2013).

À la tourbière des Creusates, l'enregistrement pollinique montre également la présence de taxons liés aux activités anthropiques (*Plantago sp.*, *Urticaceae*) entre 3200 et 3050 ans B.P. environ. Une première apparition de pollens de *Cerealia* est également enregistrée autour de 3100 ans B.P. (David, données non publiées). Cependant, les pollens de plantes herbacées restent encore proportionnellement faibles (moins de 20% avec un maximum à 3100 ans B.P.) indiquant une ouverture du milieu restreinte.

L'augmentation de l'intensité de fluorescence à la période 2.A pourrait donc être associée à une activité anthropique limitée, impactant principalement les horizons de surface, et dont le changement de type de végétation favoriserait l'exportation de composés organiques plus légers. De plus, la réponse importante de l'intensité de fluorescence totale aux

variations climatiques à partir de 3200 ans B.P. au regard de la phase précédente, pourrait être amplifiée par une première déstabilisation anthropique.

Bien que faible, l'apport terrigène au lac du Bourget montre quelques augmentations coïncidant avec la phase 2.A et des avancées glaciaires entre 3180 et 3055 ans B.P. et entre 2963 et 2912 ans B.P. sont enregistrées à la Mer de Glace ([Le Roy et al. , 2015](#)), suggérant une dégradation climatique cette période, moins marquée que les suivantes. L'impact climatique ne peut donc être complètement exclu et le signal d'intensité de fluorescence pourrait donc refléter des dégradations climatiques ; sa sensibilité à cette dernière ayant été amplifiée par une première déstabilisation des sols liée à l'impact anthropique.

5.2.4 Phase 3 : de 2050 ans à 850 ans B.P.

La phase 3 marque une rupture avec la phase précédente, l'intensité de fluorescence du fluorophore 3 devenant très variable et covariant avec le fluorophore 2. En revanche, le signal du $\delta^{18}\text{O}$ reste semblable à la phase précédente avec toujours une tendance légèrement décroissante (figure 5.10).

5.2.4.1 Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation

Les hypothèses d'interprétation du $\delta^{18}\text{O}$ restent les mêmes que précédemment puisque la tendance du signal n'évolue pas. Cependant, la période 3.A entre 2080 et 1750 ans B.P. est marquée par une diminution des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ (valeur moyenne de -7,8 ‰ contre -7,5‰ sur la globalité de la phase). Cette période indiquerait un renforcement de la proportion de recharge hivernale et/ou une diminution de la recharge estivale attribuée à :

- une diminution des précipitations estivales ;
- une augmentation des précipitations hivernales ;
- une augmentation du transfert de cette recharge au système due à une modification du couvert végétal (cf 5.2.3.1, et figure 5.14).

5.2.4.2 Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation

À partir de 2050 ans, l'intensité de fluorescence présente des valeurs parmi les plus élevées des 4000 dernières années et le changement de phase est marqué par la covariance des fluorophores 2 et 3, mesurés sur **GC-09B**. L'intensité du fluorophore 3 est multipliée par 2 au moment du changement de phase et présente ses valeurs maximales entre 2050 ans et 1250 ans B.P.

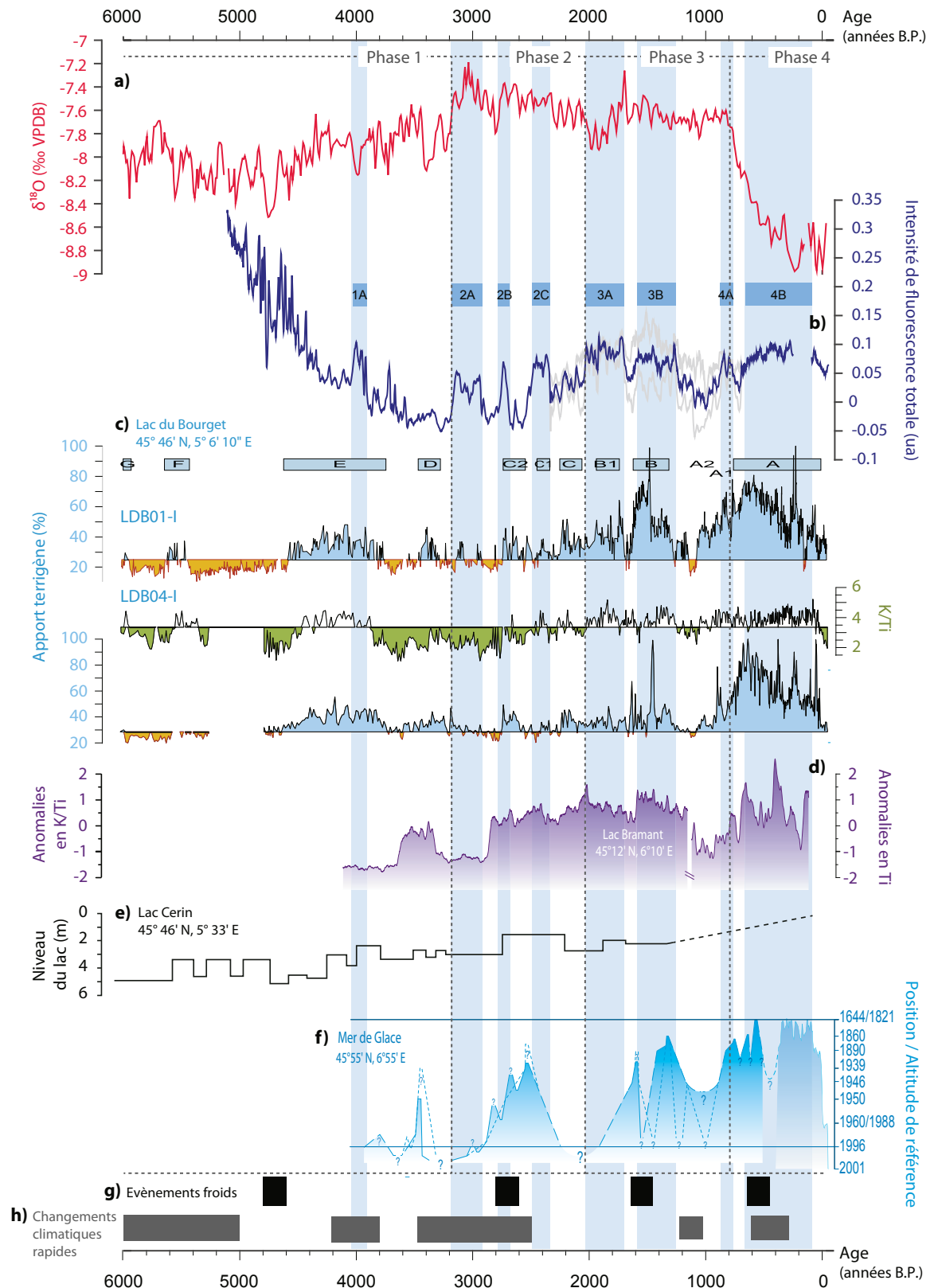


Figure 5.15 – Comparaison des indicateurs climatiques et environnementaux enregistrés dans les spéléothèmes de Garde-Cavale et dans les archives climatiques locales sur les derniers 6000 ans. Légende détaillée dans le commentaire page 195, ci-contre.

Légende de la figure 5.15 : Les traits pointillés gris représentent les phases climatiques décrites précédemment et les rectangles bleus correspondent aux différentes périodes de variations spécifiques du signal d'intensité de fluorescence. a) Variations des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des speleothèmes de GC (‰ VPDB). b) Variations de l'intensité de fluorescence totale des speleothèmes de GC (ua). c) Apport terrigène (%) et rapport K/Ti dans les carottes LDB01-I et LDB04-I du Lac du Bourget (Arnaud et al. , 2012). d) Anomalies en K/Ti (axe de gauche) jusqu'à 800 AD et anomalies en Ti après 800 AD (axe de droite) du lac proglaciaire Bramant. Ces 2 indicateurs sont considérés comme des proxies de l'activité du Glacier de Saint-Sorlin (Guyard et al. , 2013). e) Niveaux du lac Cerin (m). L'augmentation du niveau de lac est considérée comme un proxy de l'augmentation des conditions humides (Magny et al. , 2011). f) Chronologie de la Mer de Glace d'après (Nussbaumer et al. , 2007) et (Le Roy et al. , 2015) montrant les phases d'avancée et de retrait glaciaire. g) Temporalité des événements froids holocènes d'après (Wanner et al. , 2011). h) Périodes de changements climatiques rapides d'après (Mayewski et al. , 2004).

La covariance des deux pics implique la mobilisation de tous les types de composés, y compris les plus hydrophobes. Le changement radical et unique sur la séquence mesurée des variations d'intensité du fluorophore 3 (plus hydrophobe) suggère un impact environnemental sur le signal de fluorescence, modifiant la dynamique de transfert de la matière organique. L'hypothèse proposée ici est celle d'une perturbation anthropique des sols à travers les usages agricoles. La transformation d'un environnement forestier en pâture ou en culture entraîne une dégradation de la qualité du sol. Celle-ci se caractérise par une augmentation de la rupture des agrégats du sol, une diminution de la biomasse microbienne, la perte de matière organique labile et une accélération des mécanismes d'érosion (Islam & Weil, 2000). La déstabilisation des sols favorise l'exportation du carbone organique avec les événements pluvieux. De plus, la matière organique produite sous couvert forestier est généralement constituée de composés plus légers, et le turnover est plus rapide (Chantigny, 2003). L'exportation de matière organique est donc également favorisée par le changement de type de végétation. La covariation des fluorophores 2 et 3 indique que la déstabilisation concerne la totalité du profil de sol puisque les composés plus hydrophobes sont également mobilisés. Cette hypothèse coïncide avec la phase d'appauvrissement en ^{18}O observée entre 2080 et 1750 ans B.P. et pouvant être interprétée comme une réponse au changement du couvert végétal. La poursuite de ce type de variation sur le signal d'intensité de fluorescence suggère alors que les sols ne retrouvent pas un équilibre pédologique et que le flux de matière organique est alors soumis aux variations pluviométriques.

5.2.4.3 Dégradation climatique

Cette période ne présente pas de changement majeur dans les variations du $\delta^{18}\text{O}$ mais est caractérisée par une modification des variations du signal d'intensité de fluorescence persistant jusqu'à aujourd'hui. Le $\delta^{18}\text{O}$ reflèterait donc un climat plus froid, avec des précipitations hivernales moins importantes ou dont la proportion en provenance de l'Atlantique

Nord serait diminuée. Une augmentation des précipitations estivales peut également expliquer ou renforcer cette tendance (cf 5.2.3.1).

Le signal d'intensité de fluorescence totale entre 2050 ans B.P. et aujourd'hui est très similaire aux variations détritiques enregistrées au lac du Bourget et au lac Bramant ([Arnaud et al. , 2012](#); [Guyard et al. , 2013](#)). Ce signal semble donc marquer les variations des flux érosifs liés aux dégradations climatiques et/ou à l'impact anthropique.

5.2.4.4 La période romaine

L'entrée dans la phase 3 est marquée par une augmentation importante de l'intensité de fluorescence totale à partir de 2040 jusqu'à 1715 ans B.P., associée à une augmentation importante de l'intensité de fluorescence du fluorophore 3, qui covarie avec le fluorophore 2 à partir de cette période. Cette phase coïncide également avec une diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ entre 2080 et 1750 ans B.P. Cette période a été interprétée comme une période de déstabilisation des sols associée à un impact anthropique favorisant l'exportation de la matière organique dissoute, y compris depuis les horizons profonds. La diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ peut alors être associée au changement de végétation suite à l'usage agricole des sols, favorisant le transfert de la recharge hivernale au système (cf 5.2.3.1 et figure 5.14 c).

Cette période correspond à une période de retrait glaciaire ([Holzhauser et al. , 2005](#); [Joerin et al. , 2006](#); [Le Roy et al. , 2015](#)) et l'augmentation des flux érosifs au lac du Bourget, au lac de la Thuile ou au lac d'Anterne a donc été interprétée comme la résultante d'un impact anthropique sur les sols ([Arnaud et al. , 2012](#); [Giguet-Covex et al. , 2011, 2012](#); [Bajard et al. , 2015](#)). La phase 3.A est contemporaine de la phase d'augmentation du détritisme B, observée au lac du Bourget autour de 2200 ans B.P. ([Arnaud et al. , 2012](#)).

Dans les Bauges, les enregistrements polliniques indiquent une ouverture du milieu (diminution de la proportion de pollens d'espèces arborées, augmentation des *Poacées*) principalement entre 2200 et 1600 ans B.P. et débutant autour de 2500 ans B.P. ([Bajard et al. , 2015](#), et 5.16). Cette ouverture du milieu est associée à un changement d'utilisation des sols ; les terrains forestiers étant utilisés comme pâture. Cette hypothèse est soutenue par la présence de taxons comme *Plantago sp.* et d'*Urticaceae*, marqueurs du pâturage (ex. [Finsinger & Tinner, 2006](#); [David, 2010](#); [Valsecchi et al. , 2010](#); [Röpke et al. , 2011](#)). Le chêne (*Quercus*) est une espèce favorisée par une fréquence de feux modérée et est donc souvent associée à la déforestation par le feu, pour la mise en place des pâtures ([Tinner et al. , 2000](#); [Morales-Molino et al. , 2014](#)). L'augmentation des pollens de cette espèce est en phase avec l'augmentation de l'intensité de fluorescence totale et celle du fluorophore 3, ainsi qu'avec la datation d'un charbon dans le sol surplombant la salle du Précieux (1765 +/- 30 ans B.P.).

L'augmentation de l'intensité du fluorophore 3 à partir de cette période, impliquant une déstabilisation des sols en profondeur, suggère un changement des pratiques agricoles et/ou une intensification de ces dernières sur le site d'étude. La déforestation pour l'utilisation de pâture est une pratique courante dans l'utilisation du territoire en montagne dans les Alpes à cette époque (Dearing *et al.* , 2001; Noël *et al.* , 2001; Tinner *et al.* , 2003; Doyen *et al.* , 2013; Simonneau *et al.* , 2013). Une période de déforestation contemporaine aux Alpes du Sud et aux Alpes du Nord est également enregistrée autour de 2000 ans B.P. (Tinner *et al.* , 2003). L'ouverture du milieu enregistrée à la tourbière des Creusates est cependant bien moins importante qu'au lac de la Thuile, suggérant une utilisation moins intensive du plateau, certainement du fait de la différence altitudinale entre les deux sites (environ 500 m).

5.2.4.5 L'Âge sombre : 1600-1200 ans B.P.

À la suite de la période d'occupation romaine, le signal d'intensité de fluorescence marque une nouvelle augmentation de 1600 à 1270 B.P. Cette augmentation n'est pas associée à une diminution des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$. Ceci suggère une augmentation du flux de carbone organique induite par une dégradation climatique. Au lac du Bourget, au lac Bramant ou au lac d'Anterne, l'augmentation du signal détritique à cette période est également associée à une dégradation climatique (Arnaud *et al.* , 2012; Giguet-Covex *et al.* , 2012; Guyard *et al.* , 2013), avec notamment des étés plus froids et plus humides. Elle se traduit également par une avancée glaciaire (Holzhauser *et al.* , 2005; Joerin *et al.* , 2006; Le Roy *et al.* , 2015) et des niveaux de lac élevés (Magny, 2004). Par exemple, le premier pic d'avancée glaciaire à la Mer de Glace pour cette période a été daté à 1638 ans B.P. (Le Roy *et al.* , 2015). À une échelle plus globale, Wanner *et al.* (2011) la définissent comme un événement froid de la période Holocène.

Un impact anthropique est tout de même suggéré au lac du Bourget entre 1650 et 1450 ans B.P., puisque le rapport K/Ti est faible alors que l'apport terrigène est important (Arnaud *et al.* , 2012). Une période de récession très courte est également observée à la Mer de Glace (Le Roy *et al.* , 2015). Le pic d'intensité de fluorescence de la période 3.B (figure 5.15) est sous-divisé en deux pics, le premier étant daté de 1600 à 1450 ans B.P. La période 3.B pourrait donc, comme au lac du Bourget, être marquée par une activité anthropique et une dégradation climatique.

L'enregistrement du lac de la Thuile est cependant marqué par une période d'intense utilisation des sols entre 1600 et 900 ans B.P. (Bajard *et al.* , 2015, figure 5.16), ce qui est également observé au lac Paladru (Simonneau *et al.* , 2013) et au lac d'Annecy (Noël *et al.* , 2001). Ces sites enregistrent une activité agricole importante, responsable de l'érosion des sols, y compris des horizons profonds.

L'enregistrement pollinique aux Creusates montre un pic du pourcentage de pollens d'Herbacées autour de 1750 ans B.P. associé à l'extension des Céréales et la réapparition de *Juglans*. Cette période s'étend jusqu'à 1600 ans B.P. environ à partir de quand certains

taxons anthropiques disparaissent ou sont fortement réduits (*Plantago sp.*, *Artemisia*, *Rosaceae*, *Urticaeae*, *Quercus*). Les Céréales perdurent jusqu'à 1400 ans B.P. et peuvent être liées à l'implantation humaine sur le plateau associée aux estives, et donc limitée (David, données non publiées). Les modifications du cortège végétal après 1700 ans B.P. peuvent être interprétées en termes de changement de pratiques agricoles comme observé autour de 1700-1600 ans B.P. aux lacs de la Thuile, Paladru et Annecy (Noël *et al.* , 2001; Simonneau *et al.* , 2013; Bajard *et al.* , 2015). L'augmentation de la proportion de pollens d'espèces arborées après 1700 ans B.P. et la faible proportion de pollens de *Cerealia* (moins de 5%) suggèrent toutefois une diminution des pratiques agricoles sur le plateau. L'intensification de l'agriculture comme celle observée au lac de la Thuile n'est pas observée sur le plateau ce qui est cohérent avec la différence d'altitude entre les deux sites qui implique une utilisation différente des territoires et avec les pratiques rescencées par Mouthon (2009) sur le plateau de la Féclaz, sans doute principalement utilisé comme estive.

Légende de la figure 5.16 : Les traits pointillés gris représentent les phases climatiques décrites précédemment et les rectangles bleus correspondent aux différentes périodes de variations spécifiques du signal d'intensité de fluorescence. a) Variations des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des speleothèmes de GC (‰ VPDB). b) Variations de l'intensité de fluorescence totale des speleothèmes de GC (ua). c) Variations des apports terrigènes (Ti (kcps), marron), du pourcentage de matière organique (LOI550°C, noir) et de la somme des pollens herbacés (%) au lac de la Thuile. Les deux premières courbes caractérisent les flux érosifs alors que l'enregistrement pollinique est utilisé comme un indicateur de l'ouverture du milieu (Bajard *et al.* , 2015). d) Concentration en miliacine (ng/g) dans une carotte du lac du Bourget. L'occurrence de cette plante est utilisé comme proxy des cultures dans le bassin versant (Jacob *et al.* , 2009). e) Présence de pollens de taxons anthropiques (sans proportion) à la toubière des Creusates (David, données non publiées). f) Pourcentage de pollens pour plusieurs espèces arborées et proportion de pollens herbacés mesurés à la tourbière des Creusates (David, données non publiées). g) Charbons prélevés à la Féclaz, dans le sol surplombant la salle du Précieux : dates (noir) et erreurs associées (gris).

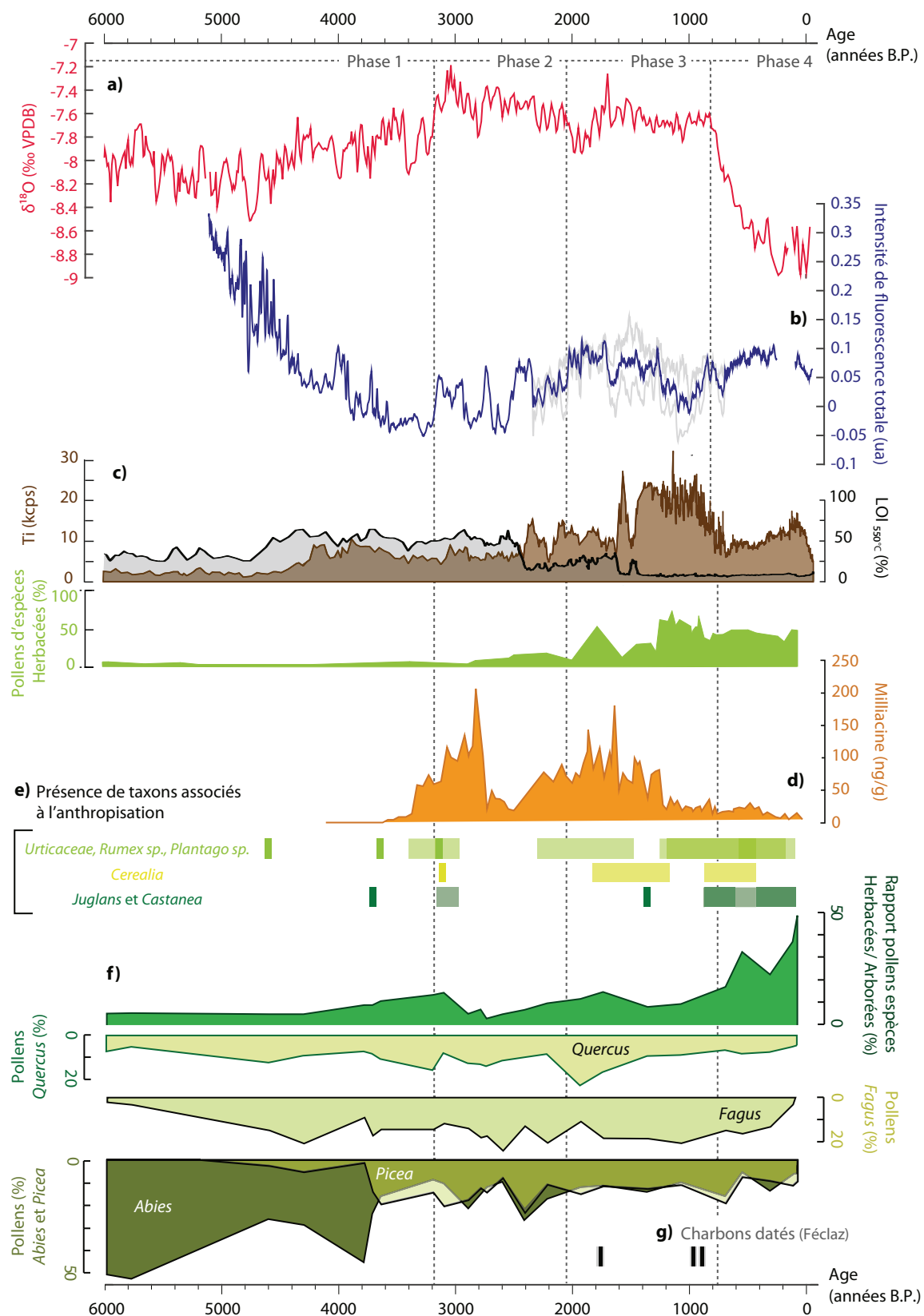


Figure 5.16 – Comparaison des indicateurs climatiques et environnementaux enregistrés dans les spéléothèmes de Garde-Cavale avec des indicateurs des modifications environnementales locales sur les derniers 6000 ans. Légende détaillé page ci-contre (p. 198).

5.2.4.6 L'optimum médiéval climatique

Entre 1200 et 900 ans B.P., l'intensité de fluorescence totale diminue, suggérant une diminution de la pluviométrie, avant un pic à 900 ans B.P. À cette période, les apports terrigènes au lac du Bourget et au lac Bramant ([Arnaud et al. , 2012](#); [Guyard et al. , 2013](#)) diminuent du fait d'une amélioration climatique correspondant à l'Optimum Médiéval Climatique (MWP - *Medieval Warm Period*). Celle-ci est appuyée par les différents retraits glaciaires observés dans les Alpes ([Holzhauser et al. , 2005](#); [Le Roy et al. , 2015](#)) et des niveaux de lacs plus faibles ([Magny, 2004](#)).

Dans les Bauges, les enregistrements polliniques diffèrent selon les sites. Au lac de la Thuile, l'augmentation de la proportion de pollens d'espèces herbacées, atteignant jusqu'à 70% des pollens totaux après 1200 ans B.P., indique un changement radical du paysage. Le bassin versant est alors caractérisé par un système agricole bien développé entraînant une érosion des horizons profonds des sols. À la tourbière des Creusates, cette période est marquée à l'inverse par un pourcentage pollinique d'espèces herbacées faible, suggérant la présence d'un couvert forestier important. Ce pourcentage augmente cependant à partir de 1100 ans B.P. pour atteindre un premier pic autour de 600 ans B.P., indiquant le retour d'une pratique agricole plus importante sur le plateau. L'extension de taxons anthropiques (*Plantago sp.*, *Urticaeae*, *Rumex*) est observée à partir de 1150 ans B.P. ([David, données non publiées](#)). Elle devient plus marquée après 900 ans B.P. avec l'extension de *Cerealia*, *Juglans* et *Castanea*, et est observée en même temps que l'augmentation de l'intensité de fluorescence totale.

Le signal de fluorescence présente donc une différence avec le signal d'érosion observé au lac de la Thuile mais apparaît plus corrélé à celui de la tourbière des Creusates. Ceci est expliqué par une différence d'utilisation des sols entre les deux sites, moins intense et plus tardive sur le plateau. L'altitude ou les flux migratoires vers les plaines à la fin de l'Âge sombre pourraient expliquer ces différences. L'analyse de la mappe sarde (1732 AD, [Conseil général de la Savoie, 2015](#)) montre que, même plus tardivement, cet environnement n'a pas été utilisé de manière importante pour les cultures.

5.2.5 Phase 4 : de 850 ans B.P. à aujourd'hui

Cette phase est marquée par une chute drastique des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$, les plus faibles de la seconde moitié de l'Holocène (-8,7‰ en moyenne sur les derniers 600 ans). Le signal de fluorescence en revanche ne montre pas de changement particulier.

5.2.5.1 Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation

Excepté les variations des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ marquant l'entrée dans la période Holocène (figure 5.13), la chute des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ à 850 ans B.P. représente la variation la plus abrupte de l'enregistrement. Ceci implique que ce changement drastique des valeurs est influencé, soit par une modification brutale du facteur de contrôle, soit par un changement de facteur de contrôle ; un second facteur devenant alors prépondérant dans la réponse du $\delta^{18}\text{O}$.

Ainsi, un changement abrupt et important d'autres paramètres climatiques, comme la température ou la quantité de précipitations par exemple, pourrait entraîner une réponse du $\delta^{18}\text{O}$ se surimposant à la réponse au facteur de contrôle dominant jusqu'alors. Cependant, ceci implique un changement climatique radical en comparaison des derniers 9000 ans. Aucun changement climatique de cette ampleur n'étant observé autour de 850 ans B.P., cette hypothèse apparaît donc peu probable (Nussbaumer *et al.*, 2011; Wanner *et al.*, 2011).

En conservant la proportion de recharge saisonnière comme facteur de contrôle principal, cette chute des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ induirait une augmentation importante des précipitations hivernales ou une chute des précipitations estivales. Cependant, là aussi cette modification devrait être radicale par rapport aux autres variations climatiques holocènes. Aucune variation climatique aussi importante n'est relevée à cette période, ce qui suggère un facteur de contrôle environnemental.

L'hypothèse proposée ici est donc celle d'un changement de végétation important, modifiant les mécanismes de recharge. Comme expliqué précédemment (cf 5.2.3.1 et figure 5.14), une déforestation importante entraîne une modification des dynamiques d'accumulation et de fonte du couvert nival qui favoriserait l'infiltration de la recharge hivernale. Cette hypothèse a pu être favorisée par une augmentation des précipitations hivernales et/ou la diminution des précipitations estivales, ainsi que par la réduction des processus d'évaporation et de sublimation liés à l'interception par la canopée qui enrichissent les eaux d'infiltration en ^{18}O .

5.2.5.2 Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation

Le signal d'intensité de la fluorescence de la matière organique ne montre pas de modifications particulières. Les deux phases d'augmentation de l'intensité entre 880 et 760 ans B.P. (4.A, figure 5.10) et entre 620 et 50 ans B.P. (4.B, figure 5.10) sont donc interprétées comme une augmentation du transfert dans des sols déjà déstabilisés, certainement liée à une augmentation de la pluviométrie. L'impact de la déforestation n'est donc pas enregistré par les deux proxies à la même période. La première déforestation moins intense, a déstabilisé les horizons des sols mais peu perturbé la recharge hivernale. En revanche, le second épisode de déforestation a pu être plus intense, pour modifier les mécanismes de

recharge. Les sols étant déjà déstabilisés, ceci n'entraîne alors pas de réponse spécifique du signal de fluorescence.

5.2.5.3 Une déforestation importante

Cette phase est marquée par la diminution drastique des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ à partir de 850 ans B.P., sans précédent sur les derniers 9000 ans, qui a été associée à un changement de couverture végétale modifiant les mécanismes de recharge. Cette période de déforestation a été enregistrée sur tout le plateau puisque l'analyse des pollens de la tourbière des Creusates montre un pic du pourcentage d'espèces herbacées entre 700 et 550 ans B.P., impliquant une réduction du couvert végétal (figure 5.16, e et f). Celle-ci est appuyée par la diminution du pourcentage de pollens d'*Abies* et de *Picea* après 700 ans B.P. (David, données non publiées). Elle s'accompagne de l'augmentation des pollens de *Juglans* significative en comparaison du reste de l'Holocène, associée à celle de *Castanea* dans une moindre mesure. Plusieurs taxons herbacés associés à l'activité anthropique sont également caractérisés par un pourcentage plus important comme les céréales, *Plantago sp.*, *Rumex*, *Urticaceae*, *Artemisia* ou encore les *Rosaceae* (David, données non publiées). Cet assemblage végétal indique une ouverture du milieu la plus importante depuis 11 500 ans B.P., induite par des activités anthropiques, certainement pour l'utilisation d'estives. Les charbons datés à 970 et 895 ans B.P. (+/- 30 ans) dans le sol au dessus de la Salle du Précieux, indiquent l'occurrence de feux liés à la déforestation ou à l'activité de charbonnage connue pour être développée dans le Massif du Vercors. Cette phase s'inscrit dans une phase de déforestation plus globale dans les Alpes entre 900 et 600 ans B.P. (Carrier & Mouthon, 2010).

Le pourcentage de pollens d'herbacées de l'enregistrement des Creusates présente une nouvelle augmentation entre 300 et 100 ans B.P. indiquant une augmentation de l'emprise agricole à cette période. L'analyse de la mappe sarde corrobore cette hypothèse puisque les parcelles forestières sont très peu représentées et que l'utilisation des sols sur le plateau est majoritairement décrite comme pré ou teppe.

Si le signal d'intensité de la fluorescence augmente à partir de 950-900 ans B.P., il ne marque pas de rupture aussi drastique que celle de la période Romaine. Ceci peut signifier que les sols sont déjà déstabilisés et le signal n'enregistre pas l'intensité de l'impact anthropique sur les sols mais seulement celui des précipitations.

5.2.5.4 Le PAG

L'augmentation du signal d'intensité de fluorescence est influencée par l'impact des conditions hydrologiques sur un sol déjà déstabilisé, suggérant une dégradation climatique commençant avant 650 ans B.P., date définie comme le début du PAG. Cette reprise hydrologique est également marquée au lac du Bourget qui présente une augmentation graduelle de l'apport terrigène à partir de 1050 ans B.P., associé à des dégradations climatiques se surimposant aux activités humaines (Arnaud *et al.*, 2012). Plusieurs débuts d'avancées glaciaires amorçant le PAG, clairement marqués dans les archives alpines à partir de 650

ans B.P., sont datés autour de 850 ans B.P. ([Holzhauser et al. , 2005](#); [Le Roy et al. , 2015](#)).

Le signal décroissant du $\delta^{18}\text{O}$ a pu être amplifié par la diminution des températures et l'augmentation des précipitations hivernales durant le PAG. Cependant, les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ ne montrent pas de réaugmentation à la fin du PAG, alors même que les cadastres réalisés à cette période indiquent un reboisement important du plateau. Cette information n'est pas enregistrée à la tourbière des Creusates puisqu'à 50 ans B.P., le pourcentage de pollen d'herbacées reste élevé (supérieur au pic de 600 ans B.P.). Ceci implique que la stabilisation du $\delta^{18}\text{O}$ à des valeurs faibles peut être induite par :

- un milieu toujours ouvert. Les parcelles au-dessus de la Salle du Précieux sont utilisées comme prés, au moins depuis l'établissement de la mappe sarde, et servent aujourd'hui encore de pâture. Si l'aire d'alimentation des spéléothèmes est faible, cela peut expliquer les valeurs toujours faibles de $\delta^{18}\text{O}$.
- l'absence de la période récente dans le spéléothème. L'erreur associée aux datations étant importante dans la partie récente et a ainsi pu biaiser le modèle d'âge. La partie très récente de la chronique Holocène pourrait donc ne pas avoir été enregistrée. Une datation supplémentaire permettrait de vérifier cette hypothèse.

5.3 Synthèse

L'interprétation réalisée à partir des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ et de l'intensité de fluorescence de la matière organique des spéléothèmes de Garde-Cavale montre une réponse des indicateurs analysés à différentes échelles (figure 5.17). La tendance croissante à l'échelle multi-millénaire des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ semble indiquer un contrôle par le forçage orbital, et donc une réponse au changement climatique global. Ce signal est également impacté en second ordre par des modifications environnementales locales, induites par des activités anthropiques, qui modifient les mécanismes de recharge. L'intensité de fluorescence de la matière organique en revanche apparaît liée en premier ordre aux changements environnementaux locaux et à l'influence de ces derniers sur la réponse aux changements climatiques. Ainsi, la déstabilisation des sols induite par les pratiques agricoles entraîne une réponse du signal de fluorescence aux conditions de pluviométrie.

Les deux indicateurs ne marquent pas les mêmes phases de changement. L'impact anthropique en particulier n'est pas observé de la même manière dans les deux signaux puisque la période romaine change radicalement le signal d'intensité de fluorescence alors que le signal de $\delta^{18}\text{O}$ est profondément modifié par l'activité humaine durant l'Optimum climatique médiéval. Ceci peut être expliqué par le fait que le signal de $\delta^{18}\text{O}$ semble principalement lié à la dynamique d'accumulation et de fonte du couvert nival alors que le signal d'intensité de fluorescence implique préférentiellement les flux d'eau en été et en automne, lorsque la production de matière organique est importante. La déstabilisation des sols lors de la période romaine entraîne une modification de la réponse de ces derniers aux écoulements alors que la dynamique du couvert nival est peu impactée. En revanche, l'activité humaine durant l'Optimum climatique médiéval modifie fortement la dynamique du couvert nival mais a peu d'impact sur les sols qui sont déjà déstabilisés.

Les changements climatiques et anthropiques observés à l'aide de ces deux indicateurs sont généralement consistants avec ceux observés dans les archives locales. Cependant, la sensibilité des indicateurs diffère et entraîne une désynchronisation des phases de changement climatique entre les archives. L'exemple le plus parlant est celui du changement observé à 4200 ans B.P., qui est très marqué dans les archives lacustres locales, mais n'apparaît pas dans l'enregistrement des spéléothèmes de Garde-Cavale. Le $\delta^{18}\text{O}$ présente une réponse à la tendance multi-millénaire du forçage orbital, et *l'évènement 4.2* est alors trop succinct pour engendrer une modification visible de ce signal. Sa réponse s'approche alors de celle des systèmes glaciaires importants dont la dynamique de réponse aux variations climatiques est plus lente. Le signal d'intensité de fluorescence répond en premier ordre aux modifications environnementales, et est marqué par les processus de pédogénèse. Sa réponse au changement climatique à 4.2 est faible et intervient en second ordre.

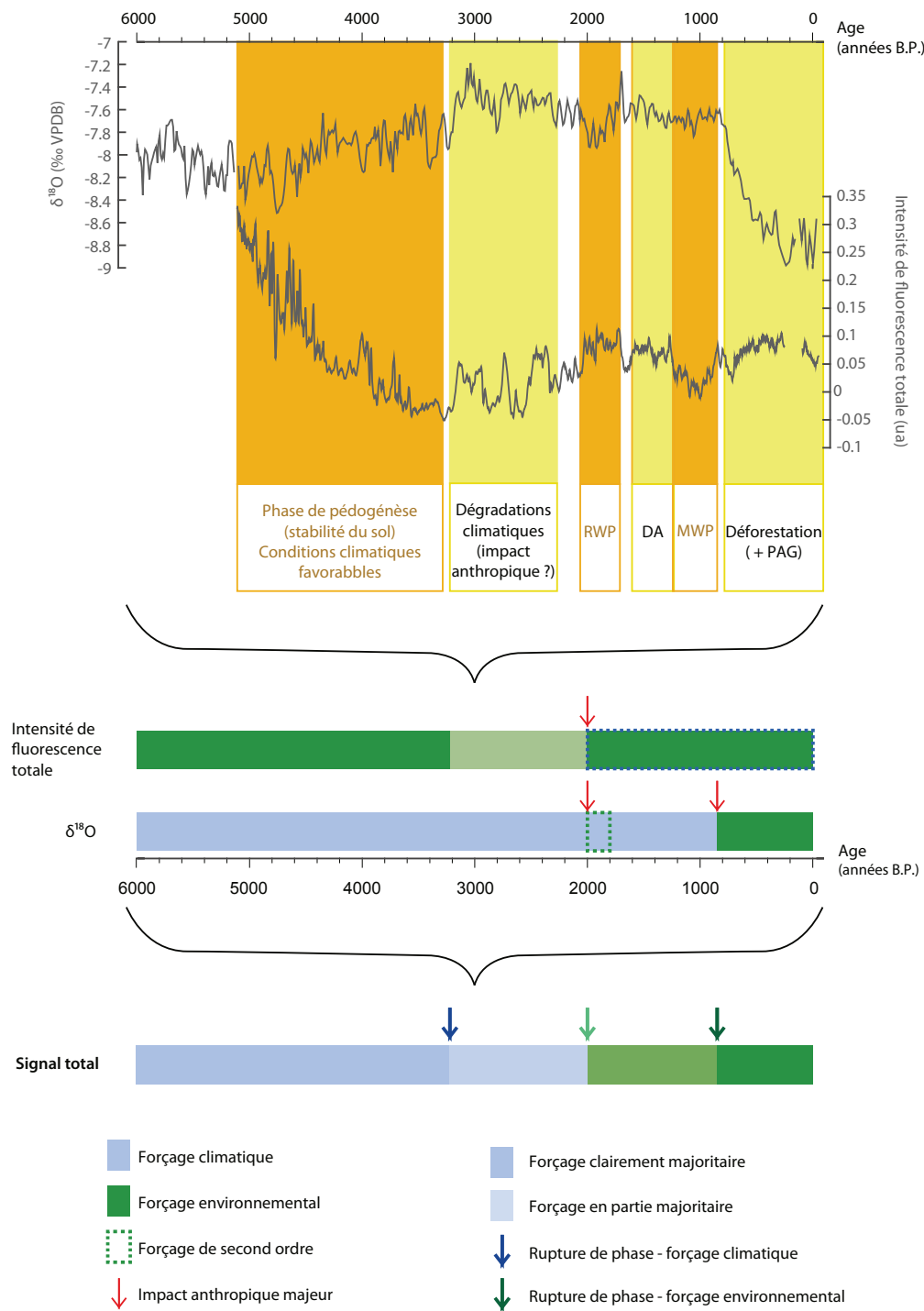


Figure 5.17 – Schéma de synthèse des forçages influençant le signal des indicateurs utilisés dans l'interprétation paléoenvironnementale des spéléothèmes de Garde-Cavale.

Enfin, la comparaison entre l'enregistrement réalisé au lac de la Thuile ([Bajard et al. , 2015](#)) et les spéléothèmes de Garde-Cavale montre une différence dans les changements environnementaux induits par les activités humaines. Ceci s'explique par une différence d'altitude et donc d'utilisation de l'environnement en fonction de cette dernière. Ainsi, l'activité agricole autour du lac de la Thuile dans le massif des Bauges est très développée, et caractérisée par un nombre important de cultures. Sur le plateau de la Féclaz en revanche, ces activités n'ont pas été observées, et ce milieu semble principalement utilisé comme estive. Ceci peut expliquer les différences de modifications d'environnement, et donc d'impact sur les sols et la végétation, observées dans les spéléothèmes de Garde-Cavale.

5.4 Perspectives d'aide à l'interprétation

L'interprétation des changements du paléoenvironnement pendant l'Holocène sur le plateau de la Féclaz a donc été réalisée à partir de deux indicateurs, les éléments trace étant manquants. Pour mieux définir cette interprétation et/ou lever les incertitudes de certaines périodes, cette section présente des exemples d'indicateurs dont l'utilisation permettrait d'améliorer la robustesse des interprétations réalisées. Une liste non exhaustive de ces indicateurs est présentée dans les sous-sections suivantes et mise en relation avec les différentes interprétations environnementales déjà réalisées dans le tableau 5.1.

5.4.1 Calibration sur les données actuelles

Plusieurs études utilisent des données actuelles afin de calibrer le signal paléoclimatique, en particulier dans le cas du $\delta^{18}\text{O}$. Le suivi *in situ* permet en effet d'étudier et de distinguer les interactions entre les changements climatiques en surface (température et précipitation par exemple) et la réponse dans la cavité (pCO_2 , débit par exemple) ([Spötl et al. , 2005](#); [Fairchild et al. , 2006b](#); [McDonald et al. , 2007](#); [Pronk et al. , 2009](#); [Riechelmann et al. , 2011](#); [Genty et al. , 2014](#)). Ainsi, les données de $\delta^{18}\text{O}$ des eaux de pluie, des écoulements et de la calcite moderne, ainsi que les paramètres météorologiques associés (quantité de pluie, température de l'air en surface et dans la cavité, température de l'eau, pCO_2) permettraient d'évaluer le ou les facteurs de contrôle du $\delta^{18}\text{O}$ des spéléothèmes.

Ces données offrent par exemple la possibilité de construire une droite météoritique locale permettant l'évaluation de l'évaporation des eaux d'écoulement relative aux précipitations, de contraindre la contribution saisonnière des précipitations aux eaux d'écoulement, et d'estimer la proportion du recyclage dans les sources de précipitation ([Lachniet, 2009](#)). Les enregistrements des éléments trace sont également soumis à différents facteurs de contrôle et plusieurs études soulignent la nécessité de connaître la géochimie des eaux d'écoulement ([Tremaine & Froelich, 2013](#)). Une mesure de l'intensité de fluorescence des eaux d'écoulements permettrait également d'évaluer les facteurs actuels contrôlant les variations des flux de carbone et en particulier l'influence des précipitations, de l'épisode de fonte et des variations de température.

Tableau 5.1 – Hypothèse d’interprétation des indicateurs mesurés sur les spéléothèmes de Garde-Cavale ($\delta^{18}\text{O}$ et intensité de fluorescence) sur les 4 phases définies préalablement et propositions d’autres indicateurs pour améliorer la robustesse de l’interprétation. Les flèches représentent l’augmentation, la diminution ou la stabilisation des processus. La courbe flèche correspond à des variations centennales ou multi-centennales. Les + ou - rouges donne une indications sur les valeurs des indicateurs, respectivement élevées ou faibles. Les hypothèses en bleu correspondent aux hypothèses considérées comme le plus probable.

Phases	Traceurs - Hypothèses d'interprétation	Traceurs - Perspectives
1	<div><div><div><div>$\uparrow \delta^{18}\text{O}$</div><div>$\uparrow T^{\circ}$ $\uparrow P$ $\downarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$</div></div><div>$\uparrow P_{\text{EST}}/\downarrow P_{\text{HIV}}$ \downarrow Source Nord-Atlantique \downarrow EVA POTRANS</div></div><div>\downarrow Int. fluorescence (\uparrow Pic 2)</div><div>$\uparrow T^{\circ}$ $\uparrow P$ \uparrow Développement sol</div></div>	<div>Sr/Ca, Mg/Ca : temps de transit, cond. hydrologiques SO_4/Cl, Na/Cl : évapotranspiration Données météorologiques/isotopiques actuelles</div> <div>Sr/Ca, Mg/Ca, Mn^{2+} : conditions hydrologiques Eléments trace (ex. : Cu, Zn, P) : flux depuis les sols liés au climat et à la végétation Dcp : turnover de la matière organique</div>
2	<div><div><div><div>$\leftrightarrow \delta^{18}\text{O}^{++}$</div><div>$\leftrightarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ $\uparrow T^{\circ}_{\text{HIV}}$ changement de source $\downarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ couverte forestier</div></div><div>\wedge Int. fluorescence (\leftrightarrow Pic 2)</div><div>$\uparrow T^{\circ}$ $\uparrow P$ \uparrow Ouverture milieu</div></div></div>	<div>Sr/Ca, Mg/Ca : cond. hydrologiques Données météorologiques/isotopiques actuelles Eléments trace (ex. P, Br, Cu) : déforestation Données météorologiques/isotopiques actuelles</div> <div>Sr/Ca, Mg/Ca, Mn^{2+} : conditions hydrologiques Eléments trace (ex. : Cu, Zn, P) : flux depuis les sols liés à la productivité végétale ou à l'érosion Dcp : turnover de la matière organique</div>
3	<div><div><div><div>$\leftrightarrow \delta^{18}\text{O}^{++}$</div><div>$\leftrightarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ $\uparrow T^{\circ}_{\text{HIV}}$ changement de source $\downarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ couverte forestier</div></div><div>\wedge Int. fluorescence (Covariation pic 2)</div><div><div>Déstabilisation anthropique des sols $\uparrow +$ Pluviométrie</div></div></div></div>	<div>Idem phase 2 Données météorologiques/isotopiques actuelles : proportion recharge, température</div> <div>Sr/Ca, Mg/Ca, Mn^{2+} : conditions hydrologiques Eléments trace (ex. : Cu, Br, P) : flux depuis les sols liés à l'érosion Dcp : turnover de la matière organique</div>
4	<div><div><div><div>$\downarrow \delta^{18}\text{O}^{--}$</div><div>$\leftrightarrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ \uparrow Autre facteur climatique $\uparrow R_{\text{HIV}}/R_{\text{EST}}$ \uparrow Déforestation</div></div><div>\wedge Int. fluorescence (Covariation pic 2)</div><div><div>Déstabilisation anthropique des sols $\uparrow +$ Pluviométrie</div></div></div></div>	<div>Sr/Ca, Mg/Ca, Mn^{2+} : conditions hydrologiques Elém. trace (ex. : Cu, Br, P) : érosion/déforestation Données météorologiques/isotopiques actuelles : température, proportion de recharge, évaporation</div> <div>Idem phase 3</div>

Cet aspect représente une limite à l'interprétation du signal des spéléothèmes de Garde-Cavale. En effet, si certaines mesures en continu ont pu être réalisées (température de l'air et température de l'eau), l'étude approfondie des eaux d'écoulements est limitée par l'accessibilité du site. Les mesures en continu peuvent être réalisées mais le fonctionnement des appareils ne peut être contrôlé régulièrement, pouvant entraîner une perte de données sur une période de temps longue si un dysfonctionnement arrive. Les prélèvements d'eau réguliers sont difficilement envisageables et constituent alors la principale limite à l'étude approfondie du fonctionnement du système.

5.4.2 Le carbone

La mesure de la proportion de carbone mort (dcp dead carbon proportion) permet d'obtenir des informations sur la proportion de carbone provenant de l'encaissant, et donc sur les modes de dissolution, ainsi que sur l'âge de la fraction de carbone provenant des sols ([Genty et al. , 2001](#)). Une augmentation du dcp implique une augmentation du taux de dissolution ou une augmentation de la proportion de dcp du CO₂ du sol induite par un vieillissement de la matière organique (ralentissement du turnover). Évaluer le turnover de la matière organique permettrait notamment de valider l'interprétation de la phase 1.

Par ailleurs, la datation du pool organique du carbone permettrait également d'évaluer la dynamique de la matière organique, le temps de transfert de cette dernière par comparaison à la datation de la calcite et de vérifier la concordance temporelle des phases marquées par les traceurs organiques et inorganiques. Cependant, ces analyses nécessiteraient un développement méthodologique complet pour obtenir des résultats avec une résolution temporelle importante et en s'affranchissant des problèmes de pollutions liés aux analyses organiques, cités précédemment.

Enfin, une analyse par spectrométrie de résonance paramagnétique électronique permettrait d'évaluer les sources de matière organique des spéléothèmes et leur évolution dans le temps ([Perrette et al. , 2015](#)).

5.4.3 Les éléments traces

5.4.3.1 Indications sur la pluviométrie

Un des facteurs de contrôle le plus souvent rencontré dans l'interprétation du signal paléoenvironnemental des spéléothèmes de Garde-Cavale est l'impact de la pluviométrie sur les mécanismes de transfert et de recharge. Plusieurs travaux ont souligné la capacité des éléments trace à tracer les changements hydrologiques (ex. [Fairchild & Treble, 2009](#); [Griffiths et al. , 2010](#)), les interactions eau-sol-roche ([Bar-Matthews et al. , 1999](#); [Borsato et al. , 2007](#)), et à détecter les changements d'apport de matériel exogène ([Goede et al. , 1998](#); [Li et al. , 2005](#)). Les ratios Mg/Ca, Sr/Ca et Ba/Ca ont été utilisés pour recons-

truire les variations relatives de la pluviométrie au cours du temps ([Hatch et al. , 2013](#); [Regattieri et al. , 2014](#)). Des conditions climatiques plus sèches (moins de pluie et plus d'évapotranspiration) favorisent un temps de résidence plus long, une diminution des débits d'égouttement, et une augmentation du dégazage du CO₂ dans les poches d'air de l'épikarst, alors moins chargé. Ces conditions conduisent à l'augmentation des ratios Mg/Ca et Sr/Ca du fait (ex. [Genty & Quinif, 1996](#); [Mayer, 1999](#); [Fairchild et al. , 2000](#); [Baldini et al. , 2002](#); [Cruz Jr. et al. , 2007](#); [Tremaine & Froelich, 2013](#); [Cross et al. , 2015](#)) :

- de plus fortes concentrations en Mg et Sr dans les eaux d'écoulement induites par de plus longues périodes d'interaction entre les eaux souterraines et l'encaissant ;
- du dépôt préférentiel des ions Ca durant la précipitation de la calcite en amont du spéléothème.

Le changement de chemin d'écoulement selon les conditions hydrologiques du système peut également être un facteur prépondérant. Les variations des ratios Mg/Ca et Sr/Ca ont également souvent été utilisées en complémentarité du signal de $\delta^{18}\text{O}$ ([Cruz Jr. et al. , 2007](#); [Orland et al. , 2014](#); [Tan et al. , 2014](#)). Ainsi, [Tremaine & Froelich \(2013\)](#) montrent que, dans le cas d'un ratio Sr/Mg constant, les covariations des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ et des ratios Mg/Ca et Sr/Ca peuvent être attribuées au volume des précipitations en conditions sèches ou humides.

L'oxydo-réduction des sols est également un bon marqueur de conditions plus humides, influençant également le transfert de la matière organique. Les sulfate et le manganèse (Mn^{2+}) peuvent être utilisés comme marqueur de l'oxydoréduction des sols ([Tremaine et al. , 2009](#)). Dans leur étude ([Perrette et al. , 2005](#)) utilise le Mn^{2+} comme marqueur de l'excès d'eau dans les sols, et donc de conditions climatiques plus humides.

Les hypothèses impliquant une augmentation de la pluviométrie pourraient être étayées par l'analyse de ces éléments.

5.4.3.2 Indications sur le signal sol-végétation

Les mécanismes d'érosion et de transport depuis les sols, notamment ceux des phases 3 et 4, pourraient être approchés également par l'analyse d'éléments trace. L'érosion des sols entraîne une forte mobilisation de la matière organique et des éléments trace qui lui sont associés, notamment en phase colloïdale ([Hartland et al. , 2012](#)). Certains éléments trace ont également été définis comme provenant du compartiment sol comme par exemple Ni, Cu ou P selon les études, et associés aux variations de fluorescence de la matière organique ([Orland et al. , 2014](#); [Rutledge et al. , 2014](#)). [Orland et al. \(2014\)](#) détectent ainsi les périodes humides associées à une forte connexion des flux d'eau avec le sol en surface et les périodes de faible flux où les écoulements sont faiblement connectés à la surface. Ces éléments pourraient donc aider à l'interprétation du signal de la fluorescence de la matière organique pour mieux identifier les phases d'érosion des sols. Par ailleurs, les processus de pédogénèse impliquent également le transfert de certains éléments ([Panahi et al. , 2000](#);

[Laveuf & Cornu, 2009](#)) et leur étude pourrait permettre d'appuyer l'hypothèse exposée pour la phase 1.

Plusieurs éléments ont été utilisés comme traceurs de conditions climatiques favorisant l'activité biologique dans les sols. Le Zn a ainsi été utilisé comme marqueur des périodes plus chaudes. Celles-ci accélèrent la production végétale et l'activité microbienne, favorisant la mobilisation de la matière organique depuis les sols ce qui entraîne celle du Zn ([Tan *et al.*, 2014](#)). Le P a également été lié aux périodes d'activités biologiques; une concentration plus faible indiquant des conditions plus froides et plus sèches réduisant à la fois l'activité végétale et l'activité biologique du sol ([Fairchild & Treble, 2009](#)). Certains éléments ont également été utilisés comme traceurs de la production végétale et des modifications de cette dernière. Dans leur étude ([Borsato *et al.*, 2007](#)) associent les éléments F, Y, Pb, Cu, Zn, P et Br aux flux automnaux et leur augmentation importante sur une période de temps plus longue a été attribuée à l'augmentation du lessivage depuis les sols due à une déforestation. Ces éléments pourraient donc permettre par exemple de contraindre les hypothèses des flux de matière liés aux conditions climatiques et aux activités anthropiques.

Les processus d'évapotranspiration sont également suggérés pour expliquer plusieurs modifications du signal enregistré dans les spéléothèmes de Garde-Cavale. [Tremaine & Froelich \(2013\)](#) utilisent les ratios SO_4/Cl et Na/Cl comme marqueurs de l'évapotranspiration dans leur étude. L'obtention d'un signal d'évapotranspiration permettrait d'évaluer si ce processus peut être considéré comme un facteur d'influence de la recharge estivale et affecter les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$, et dans quelle mesure.

Conclusion générale

L'objectif de cette étude était d'utiliser les spéléothèmes en tant qu'archives pédologiques afin d'extraire une information paléoenvironnementale haute-résolution, pour reconstituer l'histoire des sols. Pour cela, trois spéléothèmes couvrant la seconde moitié de l'Holocène ont été prélevés dans le massif des Bauges (réseau de Garde-Cavale). Ce site de moyenne montagne représente un terrain d'étude idéal pour enregistrer les variations forçages climatiques, mais également anthropiques, sur l'environnement.

Une association de quatre indicateurs organiques (la fluorescence de la matière organique, le $\delta^{13}\text{C}_{MO}$, les HAP et les lipides) a été déterminée pour combiner à la fois des indicateurs haute-résolution et des indicateurs ayant un haut degré informatif. Le croisement de ces indicateurs et du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite avait pour but d'évaluer leur complémentarité afin de proposer des interprétations paléoenvironnementales robustes. Cette approche a mis en évidence différents problèmes expérimentaux liés :

- à des problèmes analytiques ($\delta^{13}\text{C}_{MO}$, lipides), et notamment la sensibilité des analyses aux contaminations qui n'ont pu être évitées, malgré l'attention particulière portée à ce point ;
- au type d'alimentation des spéléothèmes (HAP) qui, malgré le développement méthodologique réalisé pour diminuer les quantités de calcite nécessaires aux analyses, n'a pas permis l'obtention de chroniques haute-résolution ;
- aux effets de site ($\delta^{13}\text{C}$), qui perturbent la lecture de l'information environnementale.

Parmi ces indicateurs organiques, seul le signal de fluorescence a permis un enregistrement robuste haute-résolution de la qualité et de la quantité relative de matière organique. Le méthode de simulation de spectre utilisée pour traiter le signal permet de le décomposer afin d'obtenir des informations plus précises sur les variations de matière organique. Dans le but d'établir une chronique du flux de carbone exporté au cours du temps, un développement méthodologique a été réalisé. Cette méthode est basée sur l'estimation de la concentration en carbone organique d'extraits de spéléothèmes à partir de mesure en fluorescence liquide, en appliquant la relation fluorescence-COT des sols. Les mesures de

fluorescence en phase solide sont quantifiées à partir des concentrations en carbone organique estimées, en utilisant un modèle non linéaire. Celui-ci intègre les effets de la matrice cristalline sur la mesure de fluorescence. Ce développement, réalisé sur une stalagmite test du Vercors, a permis de reconstituer les flux de carbone sur les 400 dernières années.

Le signal de fluorescence de la matière organique a été couplé au $\delta^{18}\text{O}$ pour interpréter les variations environnementales et climatiques de la seconde moitié de l'Holocène dans le massif des Bauges. L'interprétation est basée sur ces deux seuls traceurs, le $\delta^{13}\text{C}$ n'étant pas répliquable, et des problèmes analytiques n'ayant pas permis d'obtenir les éléments trace. Ces deux indicateurs permettent de proposer une histoire climatique et environnementale. Le $\delta^{18}\text{O}$ montre principalement une réponse au forçage orbital à l'échelle multi-millénaire, alors que le signal de fluorescence semble répondre aux modifications de l'environnement et notamment à l'impact anthropique sur ce dernier. L'influence de l'impact anthropique n'est pas détectée à la même période selon les deux indicateurs, mettant en lumière la sensibilité différente de ces derniers et l'intérêt des études multi-proxies.

La fluorescence de la matière organique est un proxy haute-résolution robuste du paléoenvironnement. Cependant son interprétation reste complexe et nécessite un couplage multi-proxies. Les proxies organiques représentent un intérêt important pour un tel couplage, mais leur manque de robustesse nécessite une précaution dans le choix du site des spéléothèmes étudiés et une amélioration des techniques analytiques. La proportion de matériel organique exogène est également à prendre en compte avec précaution. Appliquée à des spéléothèmes appropriés, un couplage de la fluorescence avec d'autres proxies organiques devrait permettre une reconstruction précise des paléoenvironnements à haute-résolution.

Perspectives

Perspectives liées à l'étude Une première perspective est bien sûr l'application des méthodes développées dans cette thèse aux spéléothèmes de Garde-Cavale. L'amélioration du traitement du signal en utilisant la méthode de traitement par rotation et l'application de la méthode de quantification de la fluorescence permettrait d'obtenir un enregistrement robuste des flux de carbone. D'autres proxies pourraient être combinés avec l'interprétation déjà réalisée, et notamment les éléments trace qui seront disponibles prochainement. L'application d'autres proxies organiques serait également envisageable, comme des mesures RPE par exemple.

Perspectives d'application des méthodes La reconstruction d'une chronique de HAP présente un intérêt primordial pour comprendre les contaminations passées et leur facteurs d'influence. La méthode développée dans cette thèse pour obtenir un enregistrement avec une "bonne" résolution n'est pas adaptable aux spéléothèmes de Garde-Cavale mais devrait pouvoir être appliquée sur des spéléothèmes présentant un type d'écoulement sous calcaire

fracturé (spéléothèmes plus transmissifs), similaire à celui observé au Creux des Élaphe ou à Choranche (Perrette *et al.* , 2008, 2013).

La méthode de quantification de fluorescence pourrait être appliquée à des problématiques de reconstruction de l'histoire érosive des sols, d'utilisation du paysage ou de cycles de pédogénèse au cours du temps. Le signal de fluorescence en lui-même peut être utilisé pour les études paléoenvironnementales et climatiques, mais également comme un marqueur de la matière organique globale en complément des marqueurs spécifiques, pour comprendre, et s'affranchir de leurs dynamiques particulières.

Perspectives de développement L'état de l'art et les tests réalisés sur les différents proxys organiques mettent en lumière deux points faibles à travailler :

- la nécessité de développer les méthodes analytiques ; qui requiert un travail de géochimiste ;
- la nécessité de comprendre les spécificités de transfert de ces composés. Ceci implique des études de suivi de ces différents composés, en phase soluble et en phase dissoute, depuis les sols jusqu'à l'incorporation dans les spéléothèmes.

Une méthode visant à améliorer la prise en compte de l'effet de matrice dans le signal de fluorescence pourrait également être développée. Le modèle non linéaire utilisé dans cette thèse permet déjà une correction de cet effet, mais une mesure de la diffusion au sein de l'échantillon augmenterait la précision de cette correction.

Enfin, la méthode de mesure de fluorescence UV en phase solide pourrait être adaptée à d'autres types d'archives et notamment les archives sédimentaires lacustres. Ces archives sont généralement moins bien résolues que les spéléothèmes mais la quantité de matériel importante permet de mesurer un grand nombre de proxys, dont des proxys organiques spécifiques (ADN ou miliacine par exemple). L'utilisation de cette technique fournirait un enregistrement non destructif des variations de matière organique fluorescente à haute-résolution. La décomposition du signal permettrait également de cibler les sources pédologiques et lacustres de la matière organique. Des premiers tests ont été effectués avec A.-L. Develle et Y. Perrette et présentés en communications orales à l'EGU et à l'ASF. Ils donnent des résultats prometteurs mais la mesure et l'appareil reste à adapter aux archives sédimentaires lacustres.

Bibliographie

- Aamot, E., Steinnes, E., & Schmid, R. 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons in norwegian forest soils : Impact of long range atmospheric transport. *Environmental pollution*, **92**(3), 275–280.
- Alam, Md. J., Yuan, D., Jiang, Y., Sun, Y., Li, Y., & Xu, X. 2014. Sources and transports of polycyclic aromatic hydrocarbons in the nanshan underground river, China. *Environmental earth sciences*, **71**(4), 1967–1976.
- Albéric, P. 2011. Liquid chromatography/mass spectrometry stable isotope analysis of dissolved organic carbon in stream and soil waters. *Rapid communications in mass spectrometry*, **25**(20), 3012–3018.
- Albrecht, R., Verrecchia, E., & Pfeifer, H.-R. 2015. The use of solid-phase fluorescence spectroscopy in the characterisation of organic matter transformations. *Talanta*, **134**, 453–459.
- Alves, J. C. L., & Poppi, R. J. 2013. Pharmaceutical analysis in solids using front face fluorescence spectroscopy and multivariate calibration with matrix correction by piecewise direct standardization. *Spectrochimica acta part a : Molecular and biomolecular spectroscopy*, **103**, 311–318.
- Amiotte-Suchet, P., Linglois, N., Leveque, J., & Andreux, F. 2007. ¹³C composition of dissolved organic carbon in upland forested catchments of the morvan mountains (France) : Influence of coniferous and deciduous vegetation. *Journal of hydrology*, **335**(3-4), 354–363.
- Ammari, F., Bendoula, R., Bouveresse, D. Jouan-Rimbaud, Rutledge, D. N., & Roger, J.-M. 2014. 3D front face solid-phase fluorescence spectroscopy combined with independent Components Analysis to characterize organic matter in model soils. *Talanta*, **125**, 146–152.
- Andersson, C. A., & Bro, R. 2000. The n-way toolbox for matlab. *Chemometrics & intelligent laboratory systems*, **52**(1), 1–4.
- Annan, J. D., Hargreaves, J. C., Ohgaito, R., Abe-Ouchi, A., & Emori, S. 2005. Efficiently constraining climate sensitivity with ensembles of paleoclimate simulations. *Sola*, **1**, 181–184.
- Arnaud, F., Révillon, S., Debret, M., Revel, M., Chapron, E., Jacob, J., Giguët-Covex, C., Poulenard, J., & Magny, M. 2012. Lake bourget regional erosion patterns reconstruction reveals holocene nw european alps soil evolution and paleohydrology. *Quaternary science reviews*, **51**, 81–92.
- Asrat, A., Baker, A., Mohammed, M.U., Leng, M. J., Calsteren, P.V., & Smith, C. 2007. A high-resolution multi-proxy stalagmite record from mechara, southeastern ethiopia : palaeohydrological implications for speleothem palaeoclimate reconstruction. *Journal of quaternary science*, **22**(1), 53–63.
- Baek, S.O., Field, R.A., Goldstone, M.E., Kirk, P.W., Lester, J.N., & Perry, R. 1991. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons : Sources, fate and behavior. *Water, air, and soil pollution*, **60**(3-4), 279–300.

- Bajard, M., Sabatier, P., David, F., Develle, A.-L., Reyss, J.-L., Fanget, B., Malet, E., Arnaud, D., Augustin, L., Crouzet, C., Poulenard, J., & Arnaud, F. 2015, accepted. Erosion record in lake la thuile sediments : evidence of montane landsland dynamics throughout the holocene. *The holocene*.
- Baker, A., & Genty, D. 1999. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *Journal of hydrology*, **217**(1-2), 19–34.
- Baker, A., & Lamont-Black, J. 2001. Fluorescence of dissolved organic matter as a natural tracer of ground water. *Ground water*, **39**(5), 745–750.
- Baker, A., & Spencer, R. G.M. 2004. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy. *Science of the total environment*, **333**(1-3), 217–232.
- Baker, A., Smart, P. L., Edwards, R.L., & Richards, D. A. 1993. Annual growth banding in a cave stalagmite. *Nature*, **364**(6437), 518–520.
- Baker, A., Barnes, W.L., & Smart, P.L. 1996. Speleothem luminescence intensity and spectral characteristics : Signal calibration and a record of paleovegetation change. *Chemical geology*, **130**, 65–76.
- Baker, A., Ito, E., Smart, P. L., & McEwan, R. F. 1997a. Elevated and variable values of ^{13}C in speleothems in a British cave system. *Chemical geology*, **136**(3-4), 263–270.
- Baker, A., Barnes, W. L., & Smart, P. L. 1997b. Variations in the discharge and organic matter content of stalagmite drip waters in lower cave, bristol. *Hydrological processes*, **11**(11), 1541–1555.
- Baker, A., Genty, D., & Smart, P. L. 1998. High-resolution records of soil humification and paleoclimate change from variations in speleothem luminescence excitation and emission wavelengths. *Geology*, **26**(10), 903–906.
- Baker, A., Mockler, N. J., & Barnes, W. L. 1999a. Fluorescence intensity variations of speleothem-forming groundwaters : Implications for paleoclimate reconstruction. *Water resources research*, **35**(2), 407–413.
- Baker, A., Caseldine, C.J., Gilmour, M. A., Charman, D., Proctor, C. J., Hawkesworth, C. J., & Phillips, N. 1999b. Stalagmite luminescence and peat humification records of palaeomoisture for the last 2500 years. *Earth and planetary science letters*, **165**(1), 157–162.
- Baker, A., Bolton, L., Brunsdon, C., Charlton, M., & McDermott, F. 2000. Visualisation of luminescence excitation-emission timeseries : Palaeoclimate implications from a 10,000 year stalagmite record from Ireland. *Geophysical research letters*, **27**(14), 2145–2148.
- Baker, A., Tipping, E., Thacker, S.A., & Gondar, D. 2008a. Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties. *Chemosphere*, **73**(11), 1765–1772.
- Baker, A., Smith, C. L., Jex, C., Fairchild, I. J., Genty, D., & Fuller, L. 2008b. Annually laminated speleothems : a review. *International journal of speleology*, **37**, 193–206.
- Baker, A., Wilson, R., Fairchild, I. J., Franke, J., Spötl, C., Matthey, D., Trouet, V., & Fuller, L. 2011. High resolution d^{18}O and d^{13}C records from an annually laminated scottish stalagmite and relationship with last millennium climate. *Global and planetary change*, **79**(3), 303–311.
- Baldini, J. U.L., McDermott, F., & Fairchild, I. J. 2002. Structure of the 8200-year cold event revealed by a speleothem trace element record. *Science*, **296**(5576), 2203–2206.
- Baldini, J.U.L., McDermott, F., Baker, A., Baldini, L.M., Matthey, D.P., & Railsback, L. Bruce. 2005. Biomass effects on stalagmite growth and isotope ratios : A 20th century analogue from wiltshire, england. *Earth and planetary science letters*, **240**(2), 486–494.

- Baldock, J. A., & Nelson, P. N. 2000. *Handbook of soil science*. CRC Press, Boca Raton, FL. Chap. Soil organic matter, pages b25–b84.
- Balesdent, J., & Mariotti, A. 1996. *Mass spectrometry of soils*. Chap. Measurement of soil organic matter turnover using ^{13}C natural abundance., pages 83–111.
- Balesdent, J., Mariotti, A., & Guillet, B. 1987. Natural ^{13}C abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil biology and biochemistry*, **19**(1), 25–30.
- Ban, F., Pan, G., Zhu, J., Cai, B., & Tan, M. 2008. Temporal and spatial variations in the discharge and dissolved organic carbon of drip waters in Beijing Shihua Cave, China. *Hydrological processes*, **22**(18), 3749–3758.
- Banjoo, D. R., & N., Paul K. 2005. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *Journal of chromatography a*, **1066**(1-2), 9–18.
- Bar-Matthews, M., Ayalon, A., & Kaufman, A. 1997. Late quaternary paleoclimate in the eastern mediterranean region from stable isotope analysis of speleothems at Soreq Cave, Israel. *Quaternary research*, **47**(2), 155–168.
- Bar-Matthews, M., Ayalon, A., Kaufman, A., & Wasserburg, G. J. 1999. The eastern mediterranean paleoclimate as a reflection of regional events : Soreq Cave, Israel. *Earth and planetary science letters*, **166**(1-2), 85–95.
- Belis, C.A., Offenthaler, I., Uhl, M., Nurmi-Legat, J., Bassan, R., Jakobi, G., Kirchner, M., Knoth, W., Kräuchi, N., Levy, W., Magnani, T., Moche, W., Schramm, K.-W., Simoncic, P., & Weiss, P. 2009. A comparison of alpine emissions to forest soil and spruce needle loads for persistent organic pollutants (POPs). *Environmental pollution*, **157**(12), 3185–3191. Persistent Organic Pollutants in Mountainous Areas.
- Belmont, M. 2013. *Notes d'entretien avec M. Franck Perrin, directeur du domaine Savoie Grand Revard*.
- Beniston, M. 2003. Climatic change in mountain regions : A review of possible impacts. *Pages 5–31 of : Diaz, Henry F. (ed), Climate variability and change in high elevation regions : Past, present and future*. Advances in Global Change Research, vol. 15. Springer Netherlands.
- Beniston, M. 2006. Mountain weather and climate : a general overview and a focus on climatic change in the Alps. *Hydrobiologia*, **562**(1), 3–16.
- Beniston, M., Fox, D. G., Adhikary, S., Andressen, R., Guisan, A., Holten, J., Innes, J., Maitima, J., Price, M., & Tessier, L. 1996. Impacts of climate change on mountain regions. *Second assessment report of the intergovernmental panel on climate change (IPCC)*, 191–213.
- Birdwell, J. E., & Engel, A. S. 2010. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV-Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. *Organic geochemistry*, **41**(3), 270–280.
- Birgül, A., Tasdemir, Y., & Cindoruk, S. Siddik. 2011. Atmospheric wet and dry deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) determined using a modified sampler. *Atmospheric research*, **101**(1-2), 341–353.
- Bizzotto, E.C., Villa, S., Vaj, C., & Vighi, M. 2009. Comparison of glacial and non-glacial-fed streams to evaluate the loading of persistent organic pollutants through seasonal snow/ice melt. *Chemosphere*, **74**(7), 924–930.

- Blasco, M., Domeno, C., & Nerin, C. 2008. Lichens biomonitoring as feasible methodology to assess air pollution in natural ecosystems : Combined study of quantitative pahs analyses and lichen biodiversity in the pyrenees mountains. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **391**(3), 759–771.
- Blyth, A. J., & Schouten, S. 2013. Calibrating the glycerol dialkyl glycerol tetraether temperature signal in speleothems. *Geochimica et cosmochimica acta*, **109**, 312–328.
- Blyth, A. J., & Watson, J. S. 2009. Thermochemolysis of organic matter preserved in stalagmites : a preliminary study. *Organic geochemistry*, **40**(9), 1029–1031.
- Blyth, A. J., Farrimond, P., & Jones, M. 2006. An optimised method for the extraction and analysis of lipid biomarkers from stalagmites. *Organic geochemistry*, **37**(8), 882 – 890.
- Blyth, A. J., Asrat, A., Baker, A., Gulliver, P., Leng, M. J., & Genty, D. 2007. A new approach to detecting vegetation and land-use change using high-resolution lipid biomarker records in stalagmites. *Quaternary research*, **68**(3), 314–324.
- Blyth, A. J., Watson, J. S., Woodhead, J., & Hellstrom, J. 2010. Organic compounds preserved in a 2.9 million year old stalagmite from the Nullarbor Plain, Australia. *Chemical geology*, **279**(3-4), 101–105.
- Blyth, A. J., Baker, A., Thomas, L. E., & Van Calsteren, P. 2011. A 2000-year lipid biomarker record preserved in a stalagmite from north-west Scotland. *Journal of quaternary science*, **26**(3), 326–334.
- Blyth, A. J., Smith, C. I., & Drysdale, R. N. 2013. A new perspective on the d13C signal preserved in speleothems using LC-IRMS analysis of bulk organic matter and compound specific stable isotope analysis. *Quaternary science reviews*, **75**, 143–149.
- Blyth, A. J., Shutova, Y., & Smith, C. 2013a. $\delta^{13}\text{C}$ analysis of bulk organic matter in speleothems using liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry. *Organic geochemistry*, **55**, 22–25.
- Blyth, A. J., Jex, C. N., Baker, A., Khan, S. J., & Schouten, S. 2014. Contrasting distributions of glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) in speleothems and associated soils. *Organic geochemistry*, **69**, 1–10.
- Blyth, A.J., Baker, A., Collins, M. J., Penkman, K. E.H., Gilmour, M. A., Moss, J. S., Genty, D., & Drysdale, R. N. 2008. Molecular organic matter in speleothems and its potential as an environmental proxy. *Quaternary science reviews*, **27**(9-10), 905–921.
- Boch, R., Spötl, C., & Kramers, J. 2009. High-resolution isotope records of early Holocene rapid climate change from two coeval stalagmites of Katerloch Cave, Austria. *Quaternary science reviews*, **28**(23-24), 2527–2538.
- Boffetta, P., Jourenkova, N., & Gustavsson, P. 1997. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer causes & control*, **8**(3), 444–472.
- Bogdal, C. and Schmid, P., Zennegg, M., Anselmetti, F. S., Scheringer, M., & Hungerbühler, K. 2009. Blast from the past : Melting glaciers as a relevant source for persistent organic pollutants. *Environmental science & technology*, **43**(21), 8173–8177. PMID : 19924940.
- Borsato, A., Frisia, S., Fairchild, I. J., Somogyi, A., & Susini, J. 2007. Trace element distribution in annual stalagmite laminae mapped by micrometer-resolution X-ray fluorescence : Implications for incorporation of environmentally significant species. *Geochimica et cosmochimica acta*, **71**(6), 1494–1512.
- Bosle, J. M., Mischel, S. A., Schulze, A-L., Scholz, D., & Hoffmann, T. 2014. Quantification of low molecular weight fatty acids in cave drip water and speleothems using HPLC-ESI-IT/MS : development and validation of a selective method. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **406**(13), 3167–3177.

- Brennan, E.S., & White, W.B. 2013. Luminescence of speleothems : a comparison of sources and environments. *Journal of cave and karst studies*, **75**(3), 210–217.
- Brisset, E., Miramont, C., Guiter, F., Anthony, E. J., Tachikawa, K., Poulenard, J., Arnaud, F., Delhon, C., Meunier, J-D., Bard, E., & Suméra, F. 2013. Non-reversible geosystem destabilisation at 4200 cal. BP : Sedimentological, geochemical and botanical markers of soil erosion recorded in a Mediterranean alpine lake. *The holocene*, **23**(12), 1863–1874.
- Brook, G.A, Burney, D. A., & Cowart, J. B. 1990. Desert paleoenvironmental data from cave speleothems with examples from the Chihuahuan, Somali-Chalbi, and Kalahari deserts. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, **76**(3), 311–329.
- Brovkin, V., Sitch, S., Von Bloh, W., Claussen, M., Bauer, E., & Cramer, W. 2004. Role of land cover changes for atmospheric CO₂ increase and climate change during the last 150 years. *Global change biology*, **10**(8), 1253–1266.
- Bu, X., Wang, L., Ma, W., Yu, X., McDowell, W. H., & Ruan, H. 2010. Spectroscopic characterization of hot-water extractable organic matter from soils under four different vegetation types along an elevation gradient in the Wuyi Mountains. *Geoderma*, **159**(1-2), 139–146.
- Burdige, D. J., Kline, S. W., & Chen, W. 2004. Fluorescent dissolved organic matter in marine sediment pore waters. *Marine chemistry*, **89**(1-4), 289–311. CDOM in the Ocean : Characterization, Distribution and Transformation.
- Cachada, A., Pato, P., Rocha-Santos, T., da Silva, E. Ferreira, & Duarte, A.C. 2012. Levels, sources and potential human health risks of organic pollutants in urban soils. *Science of the total environment*, **430**, 184–192.
- Carrera, G., Fernández, P., Vilanova, R. M., & O.Grimalt, J. 2001. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas. *Atmospheric environment*, **35**(2), 245–254.
- Carrier, N., & Mouthon, F. 2010. *Paysans des Alpes. Les communautés montagnardes au Moyen Âge*. Presses universitaires de Rennes.
- Caseldine, C. J, McGarry, S. F., Baker, A., Hawkesworth, C., & Smart, P. L. 2008. Late Quaternary speleothem pollen in the British Isles. *Journal of quaternary science*, **23**(2), 193–200.
- Chantigny, M. H. 2003. Dissolved and water-extractable organic matter in soils : a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma*, **113**(3-4), 357–380. Ecological aspects of dissolved organic matter in soils.
- Chapron, E., Desmet, M., De Putter, T., Loutre, M. F., Beck, C., & Deconinck, J. F. 2002. Climatic variability in the northwestern Alps, France, as evidenced by 600 years of terrigenous sedimentation in Lake Le Bourget. *The holocene*, **12**(2), 177–185.
- Charlier, J-B., Bertrand, C., Binet, S., Mudry, J., & Bouillier, N. 2010. Use of continuous measurements of dissolved organic matter fluorescence in groundwater to characterize fast infiltration through an unstable fractured hillslope (Valabres rockfall, French Alps). *Hydrogeology journal*, **18**(8), 1963–1969.
- Charlier, J-B., Bertrand, C., & Mudry, J. 2012. Conceptual hydrogeological model of flow and transport of dissolved organic carbon in a small Jura karst system. *Journal of hydrology*, **460-461**, 52–64.
- Chen, R.F, Jiang, Y., & Zhao, M. 2000. Solid-phase fluorescence determination of chlorins in marine sediments. *Organic geochemistry*, **31**(12), 1755–1763.

- Chilom, G., Bruns, A. S., & Rice, J. A. 2009. Aggregation of humic acid in solution : Contributions of different fractions. *Organic geochemistry*, **40**(4), 455–460.
- Christ, M. J., & David, M. B. 1996. Temperature and moisture effects on the production of dissolved organic carbon in a Spodosol. *Soil biology and biochemistry*, **28**(9), 1191–1199.
- Coble, P. G. 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine chemistry*, **51**(4), 325–346.
- Coleman, K., & Jenkinson, D.S. 1996. RothC-26.3-A Model for the turnover of carbon in soil. *Pages 237–246 of : Evaluation of soil organic matter models*. Springer.
- Conant, R. T., Ryan, M. G., Agren, G. I., Birge, H. E., Davidson, E. A., Eliasson, P. E., Evans, S. E., Frey, S. D., Giardina, C. P., Hopkins, F. M., Hyvönen, R., Kirschbaum, M. U. F., Lavalley, J. M., Leifeld, J., Parton, W. J., Megan Steinweg, J., Wallenstein, M. D., Martin Wetterstedt, J. A., & Bradford, M. A. 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global change biology*, **17**(11), 3392–3404.
- Conseil général de la Savoie. 2015. *Archives en ligne*, www.archives-savoie.fr.
- Cosford, J., Qing, H., Matthey, D., Eglington, B., & Zhang, M. 2009. Climatic and local effects on stalagmite $\delta^{13}\text{C}$ values at Lianhua Cave, China. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, **280**(1-2), 235–244.
- Couchoud, I. 2006. *Étude pétrographique et isotopique des spéléothèmes du sud-ouest de la France formés en contexte archéologique : contribution à la connaissance des paléoclimats régionaux du stade isotopique 5*. Ph.D. thesis, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I.
- Couchoud, I. 2008a. Les isotopes stables de l'oxygène et du carbone dans les spéléothèmes : des archives paléoenvironnementales. *Quaternaire*, **19**(4).
- Couchoud, I. 2008b. Les spéléothèmes, archives des variations paléoenvironnementales. *Quaternaire. Revue de l'Association française pour l'étude du Quaternaire*, **19**(4), 255–274.
- Cronin, T. M. 2013. *Principles of paleoclimatology*. Columbia University Press.
- Cross, M., McGee, D., Broecker, W. S., Quade, J., Shakun, J. D., Cheng, H., Lu, Y., & Edwards, R.L. 2015. Great basin hydrology, paleoclimate, and connections with the North Atlantic : A speleothem stable isotope and trace element record from Lehman Caves, NV. *Quaternary science reviews*.
- Crowell, Bryan E., & White, William B. 2012. Measurement of luminescent banding in speleothems : some techniques and limitations. *International journal of speleology*, **41**, 51–58.
- Cruz Jr., Francisco W., Burns, Stephen J., Jercinovic, Michael, Karmann, Ivo, Sharp, Warren D., & Vuille, Mathias. 2007. Evidence of rainfall variations in Southern Brazil from trace element ratios (Mg/Ca and Sr/Ca) in a Late Pleistocene stalagmite. *Geochimica et cosmochimica acta*, **71**(9), 2250–2263.
- Cruz Jr., F.W., Karmann, I., Magdaleno, G.B., Coichev, N., & Viana Jr., O. 2005. Influence of hydrological and climatic parameters on spatial-temporal variability of fluorescence intensity and DOC of karst percolation waters in the Santana Cave System, Southeastern Brazil. *Journal of hydrology*, **302**(1-4), 1–12.
- Daly, G. L., & Wania, F. 2005. Organic contaminants in mountains. *Environmental science & technology*, **39**(2), 385–398. PMID : 15707037.
- David, F. 1995. Vegetation dynamics in the northern French Alps. *Historical biology*, **9**(4), 269–295.

- David, F. 2010. An example of the consequences of human activities on the evolution of subalpine landscapes. *Comptes rendus palevol*, **9**(5), 229–235.
- David, F. données non publiées. *Données palynologiques holocènes de l'enregistrement de la tourbière des Creusates*.
- David, F., Farjanel, G., & Jolly, M-P. 2000. Enregistrement de l'histoire de la végétation tardiglaciaire et holocène dans un grand lac : le lac d'Annecy (France). *Géographie physique et quaternaire*, **54**(1), 91–103.
- Davin, E.L., de Noblet-Ducoudré, N., & Friedlingstein, P. 2007. Impact of land cover change on surface climate : Relevance of the radiative forcing concept. *Geophysical research letters*, **34**(13).
- Davis, B.A.S., Brewer, S., Stevenson, A.C., & Guiot, J. 2003. The temperature of Europe during the Holocene reconstructed from pollen data. *Quaternary science reviews*, **22**(15-17), 1701–1716.
- de Souza Sierra, M. M., Donard, O. F.X., & Lamotte, M. 1997. Spectral identification and behaviour of dissolved organic fluorescent material during estuarine mixing processes. *Marine chemistry*, **58**(1-2), 51–58. 4th International Symposium on the Biogeochemistry of Model Estuaries.
- Dearing, J., Hu, Y., Doody, P., James, P.A., & Brauer, A. 2001. Preliminary reconstruction of sediment-source linkages for the past 6000 yr at the Petit Lac d'Annecy, France, based on mineral magnetic data. *Journal of paleolimnology*, **25**(2), 245–258.
- Deines, P. 1980. *The isotopic composition of reduced organic carbon*. Elsevier.
- Deline, P., & Orombelli, G. 2005. Glacier fluctuations in the western Alps during the Neoglacial, as indicated by the Miage morainic amphitheatre (Mont Blanc massif, Italy). *Boreas*, **34**(4), 456–467.
- Demeny, A., Czippon, G., Siklosy, Z., Leel-Ossy, S., Lin, K., Shen, C-C., & Gulyas, K. 2013. Mid-Holocene climate conditions and moisture source variations based on stable H, C and O isotope compositions of speleothems in Hungary. *Quaternary international*, **293**, 150–156.
- Denniston, R. F., González, L. A., Baker, R. G., Asmerom, Y., Reagan, M. K., Edwards, R. L., & Alexander, E. C. 1999. Speleothem evidence for Holocene fluctuations of the prairie-forest ecotone, north-central USA. *The holocene*, **9**(6), 671–676.
- Denniston, R.F., Gonzalez, L.A., Asmerom, Y., Polyak, V., Reagan, M.K., & Saltzman, M.R. 2001. A high-resolution speleothem record of climatic variability at the Allerod-Younger Dryas transition in Missouri, central United States. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology*, **176**(1-4), 147–155.
- Desalme, D., Binet, P., & Chiapusio, G. 2013. Challenges in tracing the fate and effects of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbon deposition in vascular plants. *Environmental science & technology*, **47**, 3967–3981.
- Dewalle, D. R., & Swistock, B. R. 1994. Differences in oxygen-18 content of throughfall and rainfall in hardwood and coniferous forests. *Hydrological processes*, **8**(1), 75–82.
- Dieckow, J., Bayer, C., Conceicao, P. C., Zanatta, J. A., Martin-Neto, L., Milori, D. B. M., Salton, J. C., Macedo, M. M., Mielniczuk, J., & Hernani, L. C. 2009. Land use, tillage, texture and organic matter stock and composition in tropical and subtropical Brazilian soils. *European journal of soil science*, **60**(2), 240–249.
- Doick, K. J., Burauel, P., Jones, K. C., & Semple, K. T. 2005. Distribution of aged ¹⁴C-PCB and ¹⁴C-PAH residues in particle-size and humic fractions of an agricultural soil. *Environmental science and technology*, **39**(17), 6575–6583.

- Domeno, C., Blasco, M., Sanchez, C., & Nerin, C. 2006. A fast extraction technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from lichens samples used as biomonitors of air pollution : Dynamic sonication versus other methods. *Analytica chimica acta*, **569**(1-2), 103–112.
- Dorale, J. A., & Liu, Z. 2009. Limitations of Hendy test criteria in judging the paleoclimatic suitability of speleothems and the need for replication. *Journal of cave and karst studies*, **71**(1), 73–80.
- Dorale, J. A., Edwards, R. L., Ito, E., & González, L. A. 1998. Climate and vegetation history of the midcontinent from 75 to 25 ka : a speleothem record from Crevice Cave, Missouri, USA. *Science*, **282**(5395), 1871–1874.
- Doyen, E., Vanniere, B., Berger, J-F., Arnaud, F., Tachikawa, K., & Bard, E. 2013. Land-use changes and environmental dynamics in the upper Rhone valley since Neolithic times inferred from sediments in Lac Moras. *The holocene*, **23**(7), 961–973.
- Drever, Jamesl., & Vance, George F. 1994. Role of soil organic acids in mineral weathering processes. *Pages 138–161 of : Pittman, EdwardD., & Lewan, MichaelD. (eds), Organic acids in geological processes.* Springer Berlin Heidelberg.
- Dreybrodt, W., & Scholz, D. 2011. Climatic dependence of stable carbon and oxygen isotope signals recorded in speleothems : From soil water to speleothem calcite. *Geochimica et cosmochimica acta*, **75**(3), 734–752.
- Drysdale, R., Zanchetta, G., Hellstrom, J., Maas, R., Fallick, A., Pickett, M., Cartwright, I., & Piccini, L. 2006. Late Holocene drought responsible for the collapse of Old World civilizations is recorded in an Italian cave flowstone. *Geology*, **34**(2), 101–104.
- Drysdale, R. N., Zanchetta, G., Hellstrom, J. C., Fallick, A. E., McDonald, J., & Cartwright, I. 2007. Stalagmite evidence for the precise timing of North Atlantic cold events during the early last glacial. *Geology*, **35**(1), 77–80.
- Duchaufour, Ph. 1993. La typologie des sols forestiers : utilité d'un référentiel basé sur la pédogenèse.
- Dungait, J. A.J., Hopkins, D. W., Gregory, A. S., & Whitmore, A. P. 2012. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global change biology*, **18**(6), 1781–1796.
- Duplessy, J.C., & Ramstein, G. 2013. *Paléoclimatologie - Trouver, dater et interpréter les indices (tome 1)*.
- Egli, M., & Poulenard, J. 2016. Soils of mountain landscapes. *In : The international encyclopedia of geography : People, the earth, environment and technology*.
- Egli, M., Mirabella, A.I., Sartori, G., & Fitze, P. 2003. Weathering rates as a function of climate : results from a climosequence of the Val Genova (Trentino, Italian Alps). *Geoderma*, **111**(1), 99–121.
- El Ali, A., Barbin, V., Calas, G., Cervelle, B., Ramseyer, K., & Bouroulec, J. 1993. Mn²⁺ activated luminescence in dolomite, calcite and magnesite : quantitative determination of manganese and site distribution by EPR and CL spectroscopy. *Chemical geology*, **104**(1-4), 189–202.
- Elsner, M., Jochmann, M. A., Hofstetter, T. B., Hunkeler, D., Bernstein, A., Schmidt, T. C., & Schimmelmann, A. 2012. Current challenges in compound-specific stable isotope analysis of environmental organic contaminants. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **403**(9), 2471–2491.

- Engler, R., Randin, C. F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N. E., Araujo, M. B., Pearman, P. B., Le Lay, G., Piedallu, C., Albert, C. H., Choler, P., Coldea, G., De Lamo, X., Dirnbock, T., Gegout, J.-C., Gomez-Garcia, D., Grytnes, J.-A. and Heegaard, E., Hoistad, F., Nogues-Bravo, D., Normand, S., Puscas, M., Sebastia, M.-T., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Trivedi, M. R., Vittoz, P., & Guisan, A. 2011. 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global change biology*, **17**(7), 2330–2341.
- Ertlen, D. 2009. *Archivage pédologique et dynamiques environnementales : Mise au point d'une méthode de reconnaissance des paléovégétations, fondée sur l'analyse spectroscopique dans le proche infrarouge (SPIR) des matières organiques de sols et paléosols*. Ph.D. thesis, Université de Strasbourg.
- Ertlen, D., Schwartz, D., Brunet, D., Trendel, J.-M., Adam, P., & Schaeffer, P. 2015. Qualitative near infrared spectroscopy, a new tool to recognize past vegetation signature in soil organic matter. *Soil biology and biochemistry*, **82**, 127–134.
- Fairchild, I. J., & Baker, A. 2012. *Speleothem science : from process to past environments*. Vol. 3. John Wiley & Sons.
- Fairchild, I. J., & Treble, P. C. 2009. Trace elements in speleothems as recorders of environmental change. *Quaternary science reviews*, **28**(5-6), 449–468.
- Fairchild, I. J., Borsato, A., Tooth, A. F., Frisia, S., Hawkesworth, C. J., Huang, Y., McDermott, F., & Spiro, B. 2000. Controls on trace element (Sr-Mg) compositions of carbonate cave waters : implications for speleothem climatic records. *Chemical geology*, **166**(3-4), 255–269.
- Fairchild, I. J., Smith, C. L., Baker, A., Fuller, L., Spötl, C., Matthey, D., McDermott, F., & E.I.M.F. 2006. Modification and preservation of environmental signals in speleothems. *Earth-science reviews*, **75**(1-4), 105–153.
- Fairchild, I. J., Tuckwell, G. W., Baker, A., & Tooth, A. F. 2006b. Modelling of dripwater hydrology and hydrogeochemistry in a weakly karstified aquifer (Bath, UK) : Implications for climate change studies. *Journal of hydrology*, **321**(1-4), 213–231.
- Fanget, B., Devos, O., & Naffrechoux, E. 2002. Pyrene transfer from clay particles to water : the role of humic acid [Role des acides humiques dans le transfert du pyrene entre les minéraux argileux et l'eau]. *Revue des sciences de l'eau/journal of water science*, **15**, 95–108.
- Finsinger, W., & Tinner, W. 2006. Holocene vegetation and land-use changes in response to climatic changes in the forelands of the southwestern Alps, Italy. *Journal of quaternary science*, **21**(3), 243–258.
- Fischer, N., & Jungclaus, J. H. 2011. Evolution of the seasonal temperature cycle in a transient Holocene simulation : orbital forcing and sea-ice. *Climate of the past*, **7**, 1139–1148.
- Fohlmeister, J., Vollweiler, N., Spötl, C., & Mangini, A. 2013. COMNISPA II : Update of a mid-European isotope climate record, 11 ka to present. *The holocene*, **23**(5), 749–754.
- Foucault, A. 2009. *Climatologie et paléoclimatologie*. Dunod.
- Freire, A., & Monteiro, M. 2013. A novel approach for inferring the proportion of terrestrial organic matter input to marine sediments on the basis of TOC :TN and $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ signatures. *Open journal of marine science*, **3**(2), 74–92.
- Friedlingstein, P., Meinshausen, M., Arora, V. K. and Jones, C. D., Anav, A., Liddicoat, S. K., & Knutti, R. 2014. Uncertainties in CMIP5 climate projections due to carbon cycle feedbacks. *Journal of climate*, **27**(2), 511–526.

- Frisia, S., Borsato, A., Fairchild, I., & McDermott, F. 2000. Calcite fabrics, growth mechanisms, and environments of formation in speleothems from the Italian Alps and Southwest Ireland. *Journal of sedimentary research*, **70**(5), 1183–1196.
- Frisia, S., Borsato, A., Preto, N., & McDermott, F. 2003. Late Holocene annual growth in three Alpine stalagmites records the influence of solar activity and the North Atlantic Oscillation on winter climate. *Earth and planetary science letters*, **216**(3), 411–424.
- Frisia, S., Borsato, A., Spötl, C., Villa, I. M., & Cucchi, F. 2005. Climate variability in the SE Alps of Italy over the past 17 000 years reconstructed from a stalagmite record. *Boreas*, **34**(4), 445–455.
- Gabrieli, J., Decet, F., Luchetta, A., Valt, M., Pastore, P., & Barbante, C. 2010 (a). Occurrence of PAH in the seasonal snowpack of the Eastern Italian Alps. *Environmental pollution*, **158**(10), 3130–3137.
- Gabrieli, J., Vallelonga, P., Cozzi, G., Garbrielli, P., Sigl, M., Decet, F., Schwikowski, M., Gaggeler, H., Boutron, C., Cescon, P., & Barbante, C. 2010 (b). Post 17th-century changes of european pah emissions recorded in high-altitude alpine snow and ice. *Environmental science & technology*, **44**, 3260–3266.
- Gaillard, M., Sugita, S., Mazier, F., Trondman, A-K., Brostrom, A., Hickler, T., Kaplan, J. O., Kjellström, E., Kokfelt, U., Kunes, P., *et al.* . 2010. Holocene land-cover reconstructions for studies on land cover-climate feedbacks. *Climate of the past*, **6**, 483–499.
- Gaillard, M-J., Kleinen, T., Samuelsson, P., Nielsen, A. B., Bergh, J., Kaplan, J., Poska, A., Sandström, C., Strandberg, G., Trondman, A-K., *et al.* . 2015. Causes of regional change - land cover. *Pages 453–477 of : Second assessment of climate change for the Baltic Sea Basin*. Springer.
- Ganopolski, A., Petoukhov, V., Rahmstorf, S., Brovkin, V., Claussen, M., Eliseev, A., & Kubatzki, C. 2001. CLIMBER-2 : a climate system model of intermediate complexity. Part II : model sensitivity. *Climate dynamics*, **17**(10), 735–751.
- Gatellier, P., Gomez, S., Gigaud, V., Berri, C., Bihan-Duval, E. Le, & Santé-Lhoutellier, V. 2007. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. *Meat science*, **76**(3), 543–547.
- Gauchon, C. 2007. *Notes d'entretiens inédits - M. Rochet, M. Grangeat*.
- Genty, D. 1992. Les spéléothèmes du tunnel de Godarville (Belgique). Un exemple exceptionnel de concrétionnement moderne - Intérêt pour l'étude de la cinétique de la précipitation de la calcite et de sa relation avec les variations d'environnement. *Speleochronos*, **4**, 3–29.
- Genty, D., & Massault, M. 1999. Carbon transfer dynamics from bomb-14C and d13C time series of a laminated stalagmite from SW France-modelling and comparison with other stalagmite records. *Geochimica et cosmochimica acta*, **63**(10), 1537–1548.
- Genty, D., & Quinif, Y. 1996. Annually laminated sequences in the internal structure of some Belgian stalagmites - importance for paleoclimatology. *Journal of sedimentary research*, **66**(1).
- Genty, D., Baker, A., & Barnes, W. 1997. Comparaison entre les lamines luminescentes et les lamines visibles annuelles de stalagmites. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences - series IIA - Earth and planetary science*, **325**(3), 193–200.
- Genty, D., Vokal, B., Obelic, B., & Massault, M. 1998. Bomb 14C time history recorded in two modern stalagmites - Importance for soil organic matter dynamics and bomb 14C distribution over continents. *Earth and planetary science letters*, **160**(3-4), 795–809.

- Genty, D., Baker, A., Massault, M., Proctor, C., Gilmour, M., Pons-Branchu, E., & Hamelin, B. 2001. Dead carbon in stalagmites : carbonate bedrock paleodissolution vs. ageing of soil organic matter. implications for $\delta^{13}\text{C}$ variations in speleothems. *Geochimica et cosmochimica acta*, **65**(20), 3443–3457.
- Genty, D., Blamart, D., Ouahdi, R., Gilmour, M., Baker, A., Jouzel, J., & Van-Exter, S. 2003. Precise dating of Dansgaard - Oeschger climate oscillations in western Europe from stalagmite data. *Nature*, **421**(6925), 833–837.
- Genty, D., Blamart, D., Ghaleb, B., Plagnes, V., Causse, Ch., Bakalowicz, M., Zouari, K., Chkir, N., Hellstrom, J., Wainer, K., & Bourges, F. 2006. Timing and dynamics of the last deglaciation from European and North African $\delta^{13}\text{C}$ stalagmite profiles-comparison with Chinese and South Hemisphere stalagmites. *Quaternary science reviews*, **25**(17-18), 2118–2142.
- Genty, D., Labuhn, I., Hoffmann, G., Danis, P.A., Mestre, O., Bourges, F., Wainer, K., Massault, M., Exter, S. Van, Regnier, E., Orengo, Ph., Falourd, S., & Minster, B. 2014. Rainfall and cave water isotopic relationships in two South-France sites. *Geochimica et cosmochimica acta*, **131**, 323–343.
- Giguet-Covex, C., Arnaud, F., Poulénard, J., Disnar, J-R., Delhon, C., Francus, P., David, F., Enters, D., Rey, P-J., & Delannoy, J-J. 2011. Changes in erosion patterns during the Holocene in a currently treeless subalpine catchment inferred from lake sediment geochemistry (Lake Anterne, 2063 m a.s.l., NW French Alps) : The role of climate and human activities. *The holocene*, **21**(4), 651–665.
- Giguet-Covex, C., Arnaud, F., Enters, D., Poulénard, J., Millet, L., Francus, P., David, F., Rey, P-J., Wilhelm, B., & Delannoy, J.-J. 2012. Frequency and intensity of high-altitude floods over the last 3.5 ka in northwestern French Alps (Lake Anterne). *Quaternary research*, **77**(1), 12–22.
- Giguet-Covex, C., Pansu, J., Arnaud, F., Rey, P-J., Griggo, C., Gielly, L., Domaizon, I., Coissac, E., David, F., Choler, P., Poulénard, J., & Taberlet, P. 2014. Long livestock farming history and human landscape shaping revealed by lake sediment DNA. *Nature communications*, **5**.
- Giralt, S., Rico-Herrero, M. T., Vega, J. C., & Valero-Garcès, B. L. 2011. Quantitative climate reconstruction linking meteorological, limnological and XRF core scanner datasets : the Lake Sanabria case study, NW Spain. *Journal of paleolimnology*, **46**(3), 487–502.
- Goede, A., McCulloch, M., McDermott, F., & Hawkesworth, C. 1998. Aeolian contribution to strontium and strontium isotope variations in a Tasmanian speleothem. *Chemical geology*, **149**(1-2), 37–50.
- Golly, B. 2014. *Études des sources et de la dynamique atmosphérique de polluants organiques particuliers en vallées alpines : apport de nouveau traceurs organiques aux modèles récepteurs*. Ph.D. thesis, Université de Grenoble.
- Golly, B., Piot, C., Jaffrezo, J-L., Brulfert, G., Berlioux, G., & Besombes, J-L. 2015. Répartition et quantification des sources de HAP en vallées alpines par des composés organiques soufrés : impact industriel ? *Pollution atmosphérique*, **224**, 2268–3798.
- González-Pérez, M., Milori, D. M.B.P., Colnago, L. A., Martin-Neto, L., & Melo, W. J. 2007. A laser-induced fluorescence spectroscopic study of organic matter in a Brazilian Oxisol under different tillage systems. *Geoderma*, **138**(1-2), 20–24.
- Griffiths, M. L., Drysdale, R. N., Gagan, M. K., Frisia, S., Zhao, J-X., Ayliffe, L. K., Hantoro, W. S., Hellstrom, J. C., Fischer, M. J., Y-X.Feng, & Suwargadi, B.W. 2010. Evidence for Holocene changes in Australian-Indonesian monsoon rainfall from stalagmite trace element and stable isotope ratios. *Earth and planetary science letters*, **292**(1-2), 27–38.

- Griffiths, M.L., Fohlmeister, J., Drysdale, R.N., Hua, Q., Johnson, K.R., Hellstrom, J.C., Gagan, M.K., & Zhao, J.-X. 2012. Hydrological control of the dead carbon fraction in a Holocene tropical speleothem. *Quaternary geochronology*, **14**, 81–93.
- Grimalt, J. O., Van Drooge, B. L., Ribes, A., Fernandez, P., & Appleby, P. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbon composition in soils and sediments of high altitude lakes. *Environmental pollution*, **131**(1), 13–24.
- Guggenberger, G., & Kaiser, K. 2003. Dissolved organic matter in soil : challenging the paradigm of sorptive preservation. *Geoderma*, **113**(3–4), 293–310. Ecological aspects of dissolved organic matter in soils.
- Guyard, H., Chapron, E., St-Onge, G., & Labrie, J. 2013. Late-Holocene NAO and oceanic forcing on high-altitude proglacial sedimentation (Lake Bramant, Western French Alps). *The holocene*, **23**(8), 1163–1172.
- Haas, J. N., Richoz, I., Tinner, W., & Wick, L. 1998. Synchronous Holocene climatic oscillations recorded on the Swiss Plateau and at timberline in the Alps. *The holocene*, **8**(3), 301–309.
- Haider, K., Martin, J. P., & Filip, Z. 1975. Humus biochemistry. In : Paul, E. A., & McLaren, A. D. (eds), *Soil biochemistry*. Marcel Dekker, Inc., New-York, NY.
- Hanewinkel, M., Cullmann, D. A., Schelhaas, M.-J., Nabuurs, G.-J., & Zimmermann, N. E. 2013. Climate change may cause severe loss in the economic value of European forest land. *Nature climate change*, **3**(3), 203–207.
- Hardt, B., Rowe, H. D., Springer, G. S., Cheng, H., & Edwards, R. L. 2010. The seasonality of east central North American precipitation based on three coeval Holocene speleothems from southern West Virginia. *Earth and planetary science letters*, **295**(3–4), 342–348.
- Hartland, A., Fairchild, I.J., Lead, J.R., & Baker, A. 2010. Fluorescent properties of organic carbon in cave dripwaters : Effects of filtration, temperature and pH. *Science of the total environment*, **408**(23), 5940–5950. Special Section : Integrating Water and Agricultural Management Under Climate Change.
- Hartland, A., Fairchild, I. J., Lead, J. R., Borsato, A., Baker, A., Frisia, S., & Baalousha, M. 2012. From soil to cave : Transport of trace metals by natural organic matter in karst dripwaters. *Chemical geology*, **304–305**, 68–82.
- Hatch, R.L., Banner, J.L., & Wong, C. 2013. Controls on modern speleothem calcite growth in a central Texas cave and implications for paleoclimate reconstruction. *Page 873 of : Agu fall meeting abstracts*, vol. 1.
- Heiri, O., & Lotter, A. F. 2005. Holocene and Lateglacial summer temperature reconstruction in the Swiss Alps based on fossil assemblages of aquatic organisms : a review. *Boreas*, **34**(4), 506–516.
- Heiri, O., Lotter, A. F., Hausmann, S., & Kienast, F. 2003. A chironomid-based Holocene summer air temperature reconstruction from the Swiss Alps. *The holocene*, **13**(4), 477–484.
- Heiri, O., Ilyashuk, B., Millet, L., Samartin, S., & Lotter, A. F. 2015. Stacking of discontinuous regional palaeoclimate records : Chironomid-based summer temperatures from the alpine region. *The holocene*, **25**(1), 137–149.
- Hellstrom, J. 2003. Rapid and accurate U/Th dating using parallel ion-counting multi-collector ICP-MS. *Journal of analytical atomic spectrometry*, **18**(11), 1346–1351.
- Hellstrom, J.C., & McCulloch, M.T. 2000. Multi-proxy constraints on the climatic significance of trace element records from a New Zealand speleothem. *Earth and planetary science letters*, **179**, 287–297.

- Herbert, B.M.J., Villa, S., & Halsall, C.J. 2006. Chemical interactions with snow : Understanding the behavior and fate of semi-volatile organic compounds in snow. *Ecotoxicology and environmental safety*, **63**(1), 3–16. The Role of High Mountains in the Global Transport of Persistent Organic Pollutants The Role of High Mountains in the Global Transport of Persistent Organic Pollutants.
- Hippelein, M., & McLachlan, M. S. 2000. Soil/Air partitioning of semivolatile organic compounds. 2. Influence of temperature and relative humidity. *Environmental science & technology*, **34**(16), 3521–3526.
- Hobléa, F. 1999. *Contribution à la connaissance et à la gestion environnementale des géosystèmes karstiques montagnards : études savoyardes*. Thèse de doctorat en géographie, Université Lumière - Lyon 2.
- Holzhauser, H., Magny, M., & Zumbühl, H. J. 2005. Glacier and lake-level variations in west-central Europe over the last 3500 years. *The holocene*, **15**(6), 789–801.
- Hua, Q., McDonald, J., Redwood, D., Drysdale, R., Lee, S., Fallon, S., & Hellstrom, J. 2012. Robust chronological reconstruction for young speleothems using radiocarbon. *Quaternary geochronology*, **14**, 67–80.
- Huang, X., Cui, J., Pu, Y., Huang, J., & Blyth, A. J. 2008. Identifying free and bound lipid fractions in stalagmite samples : An example from Heshang Cave, Southern China. *Applied geochemistry*, **23**(9), 2589–2595.
- Hudson, N., Baker, .A, & Reynolds, D. 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters : a review. *River research and applications*, **23**(6), 631–649.
- Hudson, N., Baker, A., Ward, D., Reynolds, D. M., Brunsdon, C., Carliell-Marquet, C., & Browning, S. 2008. Can fluorescence spectrometry be used as a surrogate for the Biochemical Oxygen Demand (BOD) test in water quality assessment ? An example from South West England. *Science of the total environment*, **391**(1), 149–158.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., & Parlanti, E. 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic geochemistry*, **40**(6), 706–719.
- IAEA/WMO. 2015. *Global network of isotopes in precipitation. the GNIP Database*.
- IHSS. 2015. *Isolation of IHSS soil fulvic and humic acids*.
- Ilyashuk, E. A., Koinig, K. A., Heiri, O., Ilyashuk, B. P., & Psenner, R. 2011. Holocene temperature variations at a high-altitude site in the Eastern Alps : a chironomid record from Schwarzsee ob Sölden, Austria. *Quaternary science reviews*, **30**(1-2), 176–191.
- IPCC. 2014. *Climate Change 2014 : Synthesis report. contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Tech. rept. Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.), Geneva, Switzerland.
- Islam, K.R., & Weil, R.R. 2000. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. *Agriculture, ecosystems & environment*, **79**(1), 9–16.
- Ivy-Ochs, S., Kerschner, H., Maisch, M., Christl, M., Kubik, P. W., & Schlüchter, C. 2009. Latest Pleistocene and Holocene glacier variations in the European Alps. *Quaternary science reviews*, **28**(21-22), 2137–2149. Holocene and Latest Pleistocene Alpine Glacier Fluctuations : A Global Perspective.
- Jacob, J., Disnar, J-R., Arnaud, F., Chapron, E., Debret, M., Lallier-Vergès, E., Desmet, M., & Revel-Rolland, M. 2008. Millet cultivation history in the French Alps as evidenced by a sedimentary molecule. *Journal of archaeological science*, **35**(3), 814–820.

- Jacob, J., Disnar, J-R., Arnaud, F., Gauthier, E., Billaud, Y., Chapron, E., & Bardoux, G. 2009. Impacts of new agricultural practices on soil erosion during the Bronze Age in the French Prealps. *The holocene*, **19**(2), 241–249.
- Jex, C. N., Baker, A., Fairchild, I. J., Eastwood, W. J., Leng, M. J., Sloane, H. J., Thomas, L., & Bekaroglu, E. 2010. Calibration of speleothem d18O with instrumental climate records from Turkey. *Global and planetary change*, **71**(3-4), 207–217. Oxygen isotopes as tracers of Mediterranean variability : linking past, present and future.
- Joerin, U. E., Stocker, T. F., & Schlüchter, C. 2006. Multicentury glacier fluctuations in the Swiss Alps during the Holocene. *The holocene*, **16**(5), 697–704.
- Jouot, C. 2013. *Mesure de la matière organique dans les lacs en continu à haute résolution à partir de mesures quantitatives de fluorescence induite par laser*. Rapport de master 2, Université de Savoie.
- Kaiser, K., & Kalbitz, K. 2012. Cycling downwards - dissolved organic matter in soils. *Soil biology and biochemistry*, **52**, 29–32.
- Kaiser, K., Guggenberger, G., & Zech, W. 2001. Isotopic fractionation of dissolved organic carbon in shallow forest soils as affected by sorption. *European journal of soil science*, **52**(4), 585–597.
- Kalbitz, K., & Kaiser, K. 2008. Contribution of dissolved organic matter to carbon storage in forest mineral soils. *Journal of plant nutrition and soil science*, **171**(1), 52–60.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., & Matzner, E. 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils : a review. *Soil science*, **165**(4), 277–304.
- Karoui, R., Dufour, E., & Baerdemaeker, J. De. 2007. Front face fluorescence spectroscopy coupled with chemometric tools for monitoring the oxidation of semi-hard cheeses throughout ripening. *Food chemistry*, **101**(3), 1305–1314.
- Kleber, M., & Johnson, M.G. 2010. Advances in understanding the molecular structure of soil organic matter : implications for interactions in the environment. *Advances in agronomy*, **106**, 77–142.
- Kluge, T., & Affek, H. P. 2012. Quantifying kinetic fractionation in Bunker Cave speleothems using d47. *Quaternary science reviews*, **49**, 82–94.
- Koeniger, P., Hubbart, J. A., Link, T., & Marshall, J. D. 2008. Isotopic variation of snow cover and stream-flow in response to changes in canopy structure in a snow-dominated mountain catchment. *Hydrological processes*, **22**(4), 557–566.
- Kohn, M. J. 2010. Carbon isotope compositions of terrestrial C3 plants as indicators of (paleo)ecology and (paleo)climate. *Proceedings of the national academy of sciences*, **107**(46), 19691–19695.
- Krauss, M., Wilcke, W., & Zech, W. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in forest soils : depth distribution as indicator of different fate. *Environmental pollution*, **110**(1), 79–88.
- Lachniet, M. S. 2009. Climatic and environmental controls on speleothem oxygen-isotope values. *Quaternary science reviews*, **28**(5-6), 412–432.
- Laveuf, C., & Cornu, S. 2009. A review on the potentiality of rare earth elements to trace pedogenetic processes. *Geoderma*, **154**(1-2), 1–12.
- Le Roy, M., Nicolussi, K., Deline, P., Astrade, L., Edouard, J.-L., Miramont, C., & Arnaud, F. 2015. Calendar-dated glacier variations in the western European Alps during the Neoglacial : the Mer de Glace record, Mont Blanc massif. *Quaternary science reviews*, **108**, 1–22.

- Lemordant, Y. 1977. *Infiltration et transfert des eaux souterraines en pays karstiques, le plateau du Mont Revard, Savoie*. Thèse 3ème cycle, Université de Grenoble.
- Li, H.-C., Ku, T.-L., You, C.-F., Cheng, H., Edwards, R. L., Ma, Z.-B., Tsai, W.-S., & Li, M.-D. 2005. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ and Sr/Ca in speleothems for paleoclimate reconstruction in Central China between 70 and 280 kyr ago. *Geochimica et cosmochimica acta*, **69**(16), 3933–3947.
- Li, X., Wang, C., Huang, J., Hu, C., & Xie, S. 2011. Seasonal variation of fatty acids from drip water in Heshang Cave, central China. *Applied geochemistry*, **26**(3), 341–347.
- Li, X., Hu, C., Huang, J., Xie, S., & Baker, A. 2014. A 9000-year carbon isotopic record of acid-soluble organic matter in a stalagmite from Heshang Cave, central China : Paleoclimate implications. *Chemical geology*, **388**, 71–77.
- Linge, H., Baker, A., Andersson, C., & Lauritzen, S.-E. 2009. Variability in luminescent lamination and initial $^{230}\text{Th}/^{232}\text{Th}$ activity ratios in a late Holocene stalagmite from northern Norway. *Quaternary geochronology*, **4**(3), 181–192.
- Liptzin, D., & Seastedt, T. R. 2009. Patterns of snow, deposition, and soil nutrients at multiple spatial scales at a Rocky Mountain tree line ecotone. *Journal of geophysical research : Biogeosciences*, **114**(G4).
- Lorenz, S. J., Kim, J.-H., Rimbu, N., Schneider, R. R., & Lohmann, G. 2006. Orbitally driven insolation forcing on Holocene climate trends : Evidence from alkenone data and climate modeling. *Paleoceanography*, **21**(1).
- Lu, Z., Zeng, F., Xue, N., & Li, F. 2012. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in organo-mineral particles of alluvial sandy soil profiles at a petroleum-contaminated site. *Science of the total environment*, **433**, 50–57.
- Luciani, X., Mounier, S., Paraquetti, H.H.M., Redon, R., Lucas, Y., Bois, A., Lacerda, L.D., Raynaud, M., & Ripert, M. 2008. Tracing of dissolved organic matter from the SEPETIBA Bay (Brazil) by PARAFAC analysis of total luminescence matrices. *Marine environmental research*, **65**(2), 148–157.
- Lüers, F., & ten Hulscher, Th.E.M. 1996. Temperature effect on the partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons between natural organic carbon and water. *Chemosphere*, **33**(4), 643–657.
- Luetscher, M., Hoffmann, D.L., Frisia, S., & Spötl, C. 2011. Holocene glacier history from alpine speleothems, Milchbach cave, Switzerland. *Earth and planetary science letters*, **302**(1-2), 95–106.
- MacCarthy, P. 2001. The principles of humic substances. *Soil science*, **166**(11), 738–751.
- MacDougall, A. H., Avis, C. A., & Weaver, A. J. 2012. Significant contribution to climate warming from the permafrost carbon feedback. *Nature geoscience*, **5**(10), 719–721.
- Machel, H., G., Mason, R., A., Mariano A., N., & Mucci, A. 1991. Causes and emission of luminescence in calcite and dolomite. *Luminescence microscopy and spectroscopy : qualitative and quantitative applications - spem*.
- Magny, M. 1993. Solar influences on Holocene climatic changes illustrated by correlations between past lake-level fluctuations and the atmospheric ^{14}C record. *Quaternary research*, **40**(1), 1–9.
- Magny, M. 2004. Holocene climate variability as reflected by mid-european lake-level fluctuations and its probable impact on prehistoric human settlements. *Quaternary international*, **113**(1), 65–79. The record of Human /Climate interaction in Lake Sediments.

- Magny, M., Bégeot, C., Guiot, J., & Peyron, O. 2003a. Contrasting patterns of hydrological changes in Europe in response to Holocene climate cooling phases. *Quaternary science reviews*, **22**(15-17), 1589–1596.
- Magny, M., Leuzinger, U., Bortenschlager, S., & Haas, J. N. 2006. Tripartite climate reversal in Central Europe 5600-5300 years ago. *Quaternary research*, **65**(1), 3–19.
- Magny, M., De Beaulieu, J.-L., Drescher-Schneider, R., Vannière, B., Walter-Simonnet, A.-V., Miras, Y., Millet, L., Bossuet, G., Peyron, O., Brugiapaglia, E., *et al.* . 2007. Holocene climate changes in the central Mediterranean as recorded by lake-level fluctuations at Lake Accesa (Tuscany, Italy). *Quaternary science reviews*, **26**(13), 1736–1758.
- Magny, M., Bossuet, G., Ruffaldi, P., Leroux, A., & Mouthon, J. 2011. Orbital imprint on Holocene palaeohydrological variations in west-central Europe as reflected by lake-level changes at Cerin (Jura Mountains, eastern France). *Journal of quaternary science*, **26**(2), 171–177.
- Maia, C. M.B.F., Piccolo, A., & Mangrich, A. S. 2008. Molecular size distribution of compost-derived humates as a function of concentration and different counterions. *Chemosphere*, **73**(8), 1162–1166.
- Mangini, A., Spötl, C., & Verdes, P. 2005. Reconstruction of temperature in the Central Alps during the past 2000 yr from a d18O stalagmite record. *Earth and planetary science letters*, **235**(3-4), 741–751.
- Mangini, A., Verdes, P., Spötl, C., Scholz, D., Vollweiler, N., & Kromer, B. 2007. Persistent influence of the North Atlantic hydrography on central European winter temperature during the last 9000 years. *Geophysical research letters*, **34**(2). L02704.
- Marchand, N., Besombes, J.-L., Chevron, N., MASclet, P., Aymoz, G., & Jaffrezo, J.-L. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the atmospheres of two French alpine valleys : sources and temporal patterns. *Atmospheric chemistry and physics*, **4**, 1167–1181.
- Marguet, A., Bintz, P., Nicod, P.-Y., Picavet, R., Rey, P.-J., & Thirault, E. 2008. éléments pour une histoire du peuplement nord-alpin français entre 10000 et 2700 BP. *Collection edytem*, **6**.
- Mariotti, A. 1991. Le carbone 13 en abondance naturelle, traceur de la dynamique de la matière organique des sols et de l'évolution des paléoenvironnements continentaux. *Cah orstom sér. pédofil.*, **26**, 299–313.
- Marseille, F., Disnar, J. R., Guillet, B., & Noack, Y. 1999. n-Alkanes and free fatty acids in humus and A1 horizons of soils under beech, spruce and grass in the Massif-Central (Mont-Lozère), France. *European journal of soil science*, **50**(3), 433–441.
- Martins, T., Saab, S.C., Milori, D.M.B.P., Brinatti, A.M., Rosa, J.A., Cassaro, F.A.M., & Pires, L.F. 2011. Soil organic matter humification under different tillage managements evaluated by Laser Induced Fluorescence (LIF) and C/N ratio. *Soil and tillage research*, **111**(2), 231–235.
- Masclat, P., Pistikopoulos, P., Beyne, S., & Mouvier, G. 1988. Long range transport and gas/particle distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons at a remote site in the Mediterranean Sea. *Atmospheric environment (1967)*, **22**(4), 639–650.
- Mattey, D., Lowry, D., Duffet, J., Fisher, R., Hodge, E., & Frisia, S. 2008. A 53 year seasonally resolved oxygen and carbon isotope record from a modern Gibraltar speleothem : reconstructed drip water and relationship to local precipitation. *Earth and planetary science letters*, **269**(1), 80–95.
- Matthews, B.J.H., Jones, A.C., Theodorou, N.K., & Tudhope, A.W. 1996. Excitation-emission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid bands in coral reefs. *Marine chemistry*, **55**(3-4), 317–332.

- Matzner, F. 1984. Annual rates of deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in different forest ecosystems. *Water, air, and soil pollution*, **21**(1-4), 425–434.
- Mayer, J. 1999. Spatial and temporal variation of groundwater chemistry in Pettyjohns Cave, northwest Georgia, USA. *Journal of cave and karst studies*, **61**(3), 131–138.
- Mayewski, P. A., Rohling, E. E., Stager, J. C., Karlen, W., Maasch, K. A., Meeker, L. D., Meyerson, E. A., Gasse, F., van Krevelend, S., Holmgren, K., Lee-Thorp, J., Rosqvist, G., Rack, F., Staubwasser, M., Schneider, R. R., & Steig, J. 2004. Holocene climate variability. *Quaternary research*, **62**(3), 243–255.
- McDermott, F. 2004. Palaeo-climate reconstruction from stable isotope variations in speleothems : a review. *Quaternary science reviews*, **23**(7-8), 901–918.
- McDermott, F. 2010. Methodologies to extract regional scale climatic signals from site-specific noise in speleothem stable isotope records. *Egu general assembly*.
- McDermott, F., Frisia, S., Huang, Y., Longinelli, A., Spiro, B., Heaton, T. H.E., Hawkesworth, C. J., Borsato, A., Keppens, E., Fairchild, I. J., van der Borg, K., Verheyden, S., & Selmo, E. 1999. Holocene climate variability in Europe : Evidence from d18O, textural and extension-rate variations in three speleothems. *Quaternary science reviews*, **18**(8-9), 1021–1038.
- McDermott, F., Atkinson, T.C., Fairchild, I.J., Baldini, L.M., & Matthey, D.P. 2011. A first evaluation of the spatial gradients in d18O recorded by European Holocene speleothems. *Global and planetary change*, **79**(3-4), 275–287. Rapid climate change : lessons from the recent geological past.
- McDonald, J., Drysdale, R., Hill, D., Chisari, R., & Wong, H. 2007. The hydrochemical response of cave drip waters to sub-annual and inter-annual climate variability, Wombeyan Caves, SE Australia. *Chemical geology*, **244**(3-4), 605–623.
- McGarry, S .F., & Baker, A. 2000. Organic acid fluorescence : applications to speleothem palaeoenvironmental reconstruction. *Quaternary science reviews*, **19**(11), 1087–1101.
- McGarry, S. F., & Caseldine, C. 2004. Speleothem Palynology : an undervalued tool in Quaternary studies. *Quaternary science reviews*, **23**(23-24), 2389–2404.
- McKnight, D. M., Boyer, E. W., Westerhoff, P. K., Doran, P. T., Kulbe, T., & Andersen, D. T. 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and oceanography*, **46**(1), 38–48.
- McLachlan, M. S., & Horstmann, M. 1998. Forests as filters of airborne organic pollutants : a model. *Environmental science & technology*, **32**(3), 413–420.
- Ménot, G., & Burns, S. J. 2001. Carbon isotopes in ombrogenic peat bog plants as climatic indicators : calibration from an altitudinal transect in Switzerland. *Organic geochemistry*, **32**(2), 233–245.
- Meus, P., Moureaux, P., Gailliez, S., Flament, J., Delloye, F., & Nix, P. 2014. In situ monitoring of karst springs in Wallonia (southern Belgium). *Environmental earth sciences*, **71**(2), 533–541.
- Meyer, T., Lei, Y. D., & Wania, F. 2006. Measuring the release of organic contaminants from melting snow under controlled conditions. *Environmental science & technology*, **40**(10), 3320–3326. PMID : 16749700.
- Milori, D. M. B. P., Galeti, H. V. A., Martin-Neto, L., Dieckow, J., González-Pérez M., Bayer, C., & Salton, J. 2006. Organic matter study of whole soil samples using Laser-Induced Fluorescence spectroscopy. *Soil science society of america journal*, **70**(1), 57–63.

- Morales-Molino, C., Vescovi, E., Krebs, P., Carlevaro, E., Kaltenrieder, P., Conedera, M., Tinner, W., & Colombaroli, D. 2014. The role of human-induced fire and sweet chestnut (*Castanea sativa* mill.) cultivation on the long-term landscape dynamics of the southern Swiss Alps. *The holocene*, 0959683614561884.
- Moreira, A. B., Dias, I. L.T., Neto, G. Oliveira, Zagatto, E. A.G., & Kubota, L. T. 2004. Solid-phase fluorescence spectroscopy for the determination of acetylsalicylic acid in powdered pharmaceutical samples. *Analytica chimica acta*, **523**(1), 49–52.
- Moreno, A., Sancho, C., Bartolome, M., Oliva-Urcia, B., Delgado-Huertas, A., Estrela, M. J., Corell, D., Lopez-Moreno, J., & Cacho, I. 2014. Climate controls on rainfall isotopes and their effects on cave drip water and speleothem growth : the case of Molinos cave (Teruel, NE Spain). *Climate dynamics*, **43**(1-2), 221–241.
- Motelay-Massei, A., Ollivon, D., Garban, B., & Chevreuil, M. 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk deposition at a suburban site : assessment by principal component analysis of the influence of meteorological parameters. *Atmospheric environment*, **37**(22), 3135–3146.
- Mounier, S., Patel, N., Quilici, L., Benaim, J.Y., & Benamou, C. 1999. Fluorescence 3D de la matière organique dissoute du fleuve Amazone : (Three-dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon river). *Water research*, **33**(6), 1523–1533.
- Mourier, B., Poulenard, J., Carcaillet, C., & Williamson, D. 2010. Soil evolution and subalpine ecosystem changes in the French Alps inferred from geochemical analysis of lacustrine sediments. *Journal of paleolimnology*, **44**(2), 571–587.
- Mouthon, F. 2009. *Les Bauges médiévales*. Université de Savoie.
- Mudarra, M., Andreo, B., & Baker, A. 2011. Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence : Relationship with infiltration processes. *Science of the total environment*, **409**(18), 3448–3462.
- Muller, M., Milori, D. M. B. P., Délérès, S., Steyer, J.-P., & Dudal, Y. 2011. Solid-phase fluorescence spectroscopy to characterize organic wastes. *Waste management*, **31**(9-10), 1916–1923.
- Murray, C.D., & Buttle, J.M. 2003. Impacts of clearcut harvesting on snow accumulation and melt in a northern hardwood forest. *Journal of hydrology*, **271**(1-4), 197–212.
- Naeher, S., Gilli, A., P., North R., Hamann, Y., & Schubert, C. J. 2013. Tracing bottom water oxygenation with sedimentary Mn/Fe ratios in Lake Zurich, Switzerland. *Chemical geology*, **352**, 125–133.
- Najib, H.R. 2000. *étude de la structure et du fonctionnement hydrologique du bassin versant karstique de la Doria (Massif des Bauges, Savoie)*. Thèse de 3ème cycle, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Nakanishi, T., Atarashi-Andoh, M., Koarashi, J., Saito-Kokubu, Y., & Hirai, K. 2012. Carbon isotopes of water-extractable organic carbon in a depth profile of forest soil imply a dynamic relationship with soil carbon. *European journal of soil science*, **63**(4), 495–500.
- Nakanishi, T., Atarashi-Andoh, M., Koarashi, J., Saito-Kokubu, Y., & Hirai, K. 2014. Seasonal and snowmelt-driven changes in the water-extractable organic carbon dynamics in a cool-temperate Japanese forest soil, estimated using the bomb-14C tracer. *Journal of environmental radioactivity*, **128**, 27–32.
- Natelhofer, K. J., & Fry, B. 1988. Controls on natural Nitrogen-15 and Carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil science society of america journal*, **52**(6), 1633–1640.

- Naughton, F., Bourillet, J-F., Sánchez G., M. F., Turon, J-L., & Jouanneau, J-M. 2007. Long-term and millennial-scale climate variability in northwestern France during the last 8850 years. *The holocene*, **17**(7), 939–953.
- Neff, J. C., & Asner, G. P. 2001. Dissolved organic carbon in terrestrial ecosystems : Synthesis and a model. *Ecosystems*, **4**(1), 29–48.
- Nicolussi, K., Kaufmann, M., Patzelt, G., Plicht van der, J., & Thurner, A. 2005. Holocene tree-line variability in the Kauner valley, Central Eastern Alps, indicated by dendrochronological analysis of living trees and subfossil logs. *Vegetation history and archaeobotany*, **14**(3), 221–234.
- Nielsen, T., Jorgensen, H. E., Larsen, J. C., & Poulsen, M. 1996. City air pollution of polycyclic aromatic hydrocarbons and other mutagens : occurrence, sources and health effects. *Science of the total environment*, **189-190**, 41–49. Highway and Urban Pollution.
- Noël, H., Garbolino, E., Brauer, A., Lallier-Vergès, E., de Beaulieu, J-L., & Disnar, J-R. 2001. Human impact and soil erosion during the last 5000 yrs as recorded in lacustrine sedimentary organic matter at Lac d'Annecy, the French Alps. *Journal of paleolimnology*, **25**(2), 229–244.
- Nussbaumer, S. U., Zumbühl, H. J., & Steiner, D. 2007. *Fluctuations of the Mer de Glace (Mont-Blanc area, France) AD 1500-2050 : an interdisciplinary approach using new historical data and neutral network simulations*. Universitätsverlag Wagner.
- Nussbaumer, S. U., Steinhilber, F., Trachsel, M., Breitenmoser, P., Beer, J., Blass, A., Grosjean, M., Hafner, A., Holzhauser, H., Wanner, H., & Zumbühl, H. J. 2011. Alpine climate during the Holocene : a comparison between records of glaciers, lake sediments and solar activity. *Journal of quaternary science*, **26**(7), 703–713.
- Oades, J.M. 1989. An introduction to organic matter in mineral soils. *Minerals in soil environments*, **1**, 89–159.
- O'Brien, B.J. 1956. "after glow" of cave calcite. *Natl. speleol. soc. bull*, **18**, 50–51.
- Oleszczuk, P., & Pranagal, J. 2007. Influence of agricultural land use and management on the contents of polycyclic aromatic hydrocarbons in selected silty soils. *Water, air, and soil pollution*, **184**(1-4), 195–205.
- Orland, I. J., Bar-Matthews, M., Ayalon, A., Matthews, A., Kozdon, R., Ushikubo, T., & Valley, J W. 2012. Seasonal resolution of Eastern Mediterranean climate change since 34 ka from a Soreq Cave speleothem. *Geochimica et cosmochimica acta*.
- Orland, I. J., Burstyn, Y., Bar-Matthews, M., Kozdon, R., Ayalon, A., Matthews, A., & Valley, J. W. 2014. Seasonal climate signals (1990-2008) in a modern Soreq Cave stalagmite as revealed by high-resolution geochemical analysis. *Chemical geology*, **363**, 322–333.
- Pan, B., Ghosh, S., & Xing, B. 2007. Nonideal binding between dissolved humic acids and polyaromatic hydrocarbons. *Environmental science and technology*, **41**(18), 6472–6478.
- Panahi, A., Young, G. M., & Rainbird, R. H. 2000. Behavior of major and trace elements (including REE) during Paleoproterozoic pedogenesis and diagenetic alteration of an Archean granite near Ville Marie, Québec, Canada. *Geochimica et cosmochimica acta*, **64**(13), 2199–2220.
- Panno, S V, Curry, B.B, Wang, H, Hackley, K C, Liu, C-L, Lundstrom, C, & Zhou, J. 2004. Climate change in southern Illinois, USA, based on the age and $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter in cave sediments. *Quaternary research*, **61**(3), 301–313.

- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., & Lamotte, M. 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic geochemistry*, **31**(12), 1765–1781.
- Perrette, Y. 1997. Internal structure of the speleothems and the paleoenvironments. *études de géographie physique*, **26**, 163–165.
- Perrette, Y. données non publiées. *Tests de réversibilité du photobleaching en analyse de fluorescence en phase solide*.
- Perrette, Y., & Quiers, M. données non publiées. *Données de fluorescence et d'absorbance des eaux d'écoulement de Creux Perrin et de la Salle du Précieux*. Données non publiées.
- Perrette, Y., Genty, D., Destombes, J.-L., Delannoy, J.-J., & Quinif, Y. 1997. Characterisation of speleothem crystalline fabrics by spectroscopic and digital image proprocess methods (choranche, vercors, france). *Pages 257–260 of : Proc.12th int. cong. speleol.*, vol. 1.
- Perrette, Y., Delannoy, J.-J., Bolvin, H., Cordonnier, M., Destombes, J.-L., Zhilinskaya, E. A., & Aboukais, A. 2000. Comparative study of a stalagmite sample by stratigraphy, laser induced fluorescence spectroscopy, EPR spectrometry and reflectance imaging. *Chemical geology*, **162**(3-4), 221–243.
- Perrette, Y., Delannoy, J.-J., Desmet, M., Lignier, V., & Destombes, J.-L. 2005. Speleothem organic matter content imaging. The use of a fluorescence index to characterise the maximum emission wavelength. *Chemical geology*, **214**(3-4), 193–208.
- Perrette, Y., Poulenard, J., Saber, A., Fanget, B., Guittonneau, S., Ghaleb, B., & Garaudee, S. 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in stalagmites : Occurrence and use for analyzing past environments. *Chemical geology*, **251**(1-4), 67–76.
- Perrette, Y., Poulenard, J., Durand, A., Quiers, M., Malet, E., Fanget, B., & Naffrechoux, E. 2013. Atmospheric sources and soil filtering of PAH content in karst seepage waters. *Organic geochemistry*, **65**(0), 37–45.
- Perrette, Y., Poulenard, J., Protière, M., Fanget, B., Lombard, C., Miège, C., Quiers, M., Naffrechoux, E., & Pépin-Donat, B. 2015. Determining soil sources by organic matter EPR fingerprints in two modern speleothems. *Organic geochemistry*, **88**, 59–68.
- Piccolo, A. 2001. The supramolecular structure of humic substances. *Soil science*, **166**(11), 810–832.
- Polk, J. S., van Beynen, P. E., & Reeder, P. P. 2007. Late Holocene environmental reconstruction using cave sediments from Belize. *Quaternary research*, **68**(1), 53–63.
- Polk, J. S., van Beynen, P., Asmerom, Y., & Polyak, V. J. 2013. Reconstructing past climates using carbon isotopes from fulvic acids in cave sediments. *Chemical geology*, **360-361**, 1–9.
- Pomel, S. 2008. *La mémoire des sols*. Collection Scieteren. Presses universitaires de Bordeaux.
- Pongratz, J., Reick, C.H., Raddatz, T., & Claussen, M. 2010. Biogeophysical versus biogeochemical climate response to historical anthropogenic land cover change. *Geophysical research letters*, **37**(8).
- Poulenard, J., Arnaud, F., Perrette, Y., Sabatier, P., Deline, P., Giguët-Covex, C., Bajard, M., Quiers, M., Dambrine, E., Faivre, P., & Chalmin-Aljanabi, E. 2015. La géochimie organique des sols et des sédiments : une clé pour décrire l'Anthropocène ? *Collection edytem, Sol et matière organique : mémoire et héritage*(18), 11–20. En cours de publication.

- Prentice, I.C., Farquhar, G.D., Fasham, M.J.R., Goulden, M.L., Heimann, M., Jaramillo, V.J., Kheshgi, H.S., LeQuéré, C., Scholes, R.J., & Wallace, Douglas W.R. 2001. The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. *Pages 185–237 of* : Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguer, M., van der Linden, P.J., Dai, X., Maskell, K., & Johnson, C.A. (eds), *Climate change 2001 : the scientific basis. contributions of working group i to the third assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge, UK : Cambridge University Press.
- Proctor, C. J., Baker, A., Barnes, W. L., & Gilmour, M. A. 2000. A thousand year speleothem proxy record of North Atlantic climate from Scotland. *Climate dynamics*, **16**(10-11), 815–820.
- Pronk, M., Goldscheider, N., Zopfi, J., & Zwahlen, F. 2009. Percolation and particle transport in the unsaturated zone of a karst aquifer. *Groundwater*, **47**(3), 361–369.
- Quenea, Kl., Derenne, S., Largeau, Cl., Rumpel, C., & Mariotti, A. 2004. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Organic geochemistry*, **35**(11-12), 1355–1370. *Advances in Organic Geochemistry 2003. Proceedings of the 21st International Meeting on Organic Geochemistry*.
- Quiers, M., Batiot-Guilhe, C., Bicalho, C. C., Perrette, Y., Seidel, J-L., & Van Exter, S. 2014. Characterisation of rapid infiltration flows and vulnerability in a karst aquifer using a decomposed fluorescence signal of dissolved organic matter. *Environmental earth sciences*, **71**(2), 553–561.
- Quiers, M., Perrette, Y., Chalmin, E., Fanget, B., & Poulenard, J. 2015. Geochemical mapping of organic carbon in stalagmites using liquid-phase and solid-phase fluorescence. *Chemical geology*, **411**, 240–247.
- Quiroz, R., Grimalt, J. O., Fernandez, P., Camarero, L., Catalan, J., Stuchlik, E., Thies, H., & Nickus, U. 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from european high mountain areas. *Water, air, & soil pollution*, **215**(1-4), 655–666.
- Ramseyer, K., Miano, T. M., D’orazio, V., Wildberger, A., Wagner, T., & Geister, J. 1997. Nature and origin of organic matter in carbonates from speleothems, marine cements and coral skeletons. *Organic geochemistry*, **26**(5-6), 361–378.
- Ravindra, K., Sokhi, R., & Grieken, R. Van. 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons : Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric environment*, **42**(13), 2895–2921.
- Regattieri, E., Zanchetta, G., Drysdale, R. N., I., Isola, Hellstrom, J. C., & Dallai, L. 2014. Lateglacial to Holocene trace element record (Ba, Mg, Sr) from Corchia Cave (Apuan Alps, central Italy) : paleoenvironmental implications. *Journal of quaternary science*, **29**(4), 381–392.
- Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., Wiesenberger, G. LB, Schwark, L., Andersen, N., Nadeau, M-J., & Grootes, P. M. 2004. Complexity of soil organic matter : AMS 14C analysis of soil lipid fractions and individual compounds. *Radiocarbon*, **46**(1), 465–473.
- Ribes, A.C., Lundberg, J., Waldron, D.J., Vesely, M., Damaskinos, S., Guthrie, S.I., & Dixon, A.E. 2000. Photoluminescence imaging of speleothem microbanding with a high-resolution confocal scanning laser microscope. *Quaternary international*, **68-71**, 253–259.
- Riechelmann, D. F. C., Schröder-Ritzrau, A., Scholz, D., Fohlmeister, J., Spötl, C., Richter, D. Konrad, & Mangini, A. 2011. Monitoring Bunker Cave (NW Germany) : A prerequisite to interpret geochemical proxy data of speleothems from this site. *Journal of hydrology*, **409**(3-4), 682–695.
- Riechelmann, D. F.C., Deininger, M., Scholz, D., Riechelmann, S., Schröder-Ritzrau, A., Spötl, C., Richter, D. K., Mangini, A., & Immenhauser, A. 2013. Disequilibrium carbon and oxygen isotope fractionation in recent cave calcite : Comparison of cave precipitates and model data. *Geochimica et cosmochimica acta*, **103**, 232–244.

- Roig, F., & Wilhelm, B. 2005. *Contexte géologique du réseau spéléologique Garde-Cavale (secteur 4ème rivière)*. Mémoire de licence en sciences de la terre, Université de Savoie.
- Röpke, A., Stobbe, A., Oeggl, K., Kalis, A. J., & Tinner. 2011. Late-Holocene land-use history and environmental changes at the high altitudes of St Antönien (Switzerland, Northern Alps) : Combined evidence from pollen, soil and tree-ring analyses. *The holocene*, **21**(3), 485–498.
- Rousseau, L., Laafar, ., Pepe, C., & de Lumley, H. 1995. Sterols as biogeochemical markers : Results from ensemble e of the stalagmitic floor, Grotte du Lazaret, Nice, France. *Quaternary science reviews*, **14**(1), 51–59.
- RP, Baize, D. 2008. *Référentiel pédologique 2008*. Editions Quae.
- Rushdi, A., Clark, Peter U., Mix, Alan C., Ersek, V., Simoneit, B. R.T., Cheng, H., & Edwards, R. L. 2011. Composition and sources of lipid compounds in speleothem calcite from southwestern Oregon and their paleoenvironmental implications. *Environmental earth sciences*, **62**(6), 1245–1261.
- Rutledge, H., Baker, A., Marjo, C. E., Andersen, M. S., Graham, P. W., Cuthbert, M. O., Rau, G. C., Roshan, H., Markowska, M., Mariethoz, G., & Jex, C. N. 2014. Dripwater organic matter and trace element geochemistry in a semi-arid karst environment : Implications for speleothem paleoclimatology. *Geochimica et cosmochimica acta*, **135**, 217–230.
- Schaetzl, R., & Anderson, S. 2007. *Soils : Genesis and geomorphology*. Cambridge University Press.
- Schelker, J., Kuglerová, L., Eklöf, K., Bishop, K., & Laudon, H. 2013. Hydrological effects of clear-cutting in a boreal forest - Snowpack dynamics, snowmelt and streamflow processes. *Journal of hydrology*, **484**, 105–114.
- Schouten, S., Hopmans, E. C., Schefuss, E., & Damsté, J. S. Sinninghe. 2002. Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids : a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures ? *Earth and planetary science letters*, **204**(1-2), 265–274.
- Schwartz, D. 2012. Les temps du sol. *étude et gestion des sols*, **19**(1), 51–56.
- Schwartz, D., Mariotti, A., Lanfranchi, R., & Guillet, B. 1986. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of soil organic matter as indicators of vegetation changes in the Congo. *Geoderma*, **39**(2), 97–103.
- Schwartz, D., Thinon, M., Goepp, S., Schmitt, C., Casner, J., Rosique, T., Wuscher, P., Alexandre, A., Dambrine, E., Martin, C., & Guillet, B. 2005. Premières datations directes de défrichements protohistoriques sur les chaumes secondaires des Vosges (Rossberg, Haut-Rhin). Approche pédoanthracologique. *C.r. geosciences*, **337**(14), 1250–1256.
- Schwarz, K., Gocht, T., & Grathwohl, P. 2011. Transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in highly vulnerable karst systems. *Environmental pollution*, **159**(1), 133–139.
- Schwörer, C., Kaltenrieder, P., Glur, L., Berlinger, M., Elbert, J., Frei, S., Gilli, A., Hafner, A., Anselmetti, F. S., Grosjean, M., *et al.* . 2014. Holocene climate, fire and vegetation dynamics at the treeline in the Northwestern Swiss Alps. *Vegetation history and archaeobotany*, **23**(5), 479–496.
- Semenov, V.M., Tulina, A.S., Semenova, N.A., & Ivannikova, L.A. 2013. Humification and nonhumification pathways of the organic matter stabilization in soil : A review. *Eurasian soil science*, **46**(4), 355–368.
- Seppä, H., Björne, A.E., Telford, R.J., Birks, H.J.B., & Veski, S. 2009. Last nine-thousand years of temperature variability in Northern Europe. *Climate of the past*, **5**(3), 523–535.

- Shao, Y., Wang, Y., Xu, X., Wu, X., Jiang, Z., He, S., & Qian, K. 2014. Occurrence and source apportionment of PAHs in highly vulnerable karst system. *Science of the total environment*, **490**, 153–160.
- Shen, Y., Chapelle, F., Strom, E., & Benner, R. 2015. Origins and bioavailability of dissolved organic matter in groundwater. *Biogeochemistry*, **122**(1), 61–78.
- Sholkovitz, E.R., Boyle, E.A., & Price, N.B. 1978. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and planetary science letters*, **40**(1), 130–136.
- Shopov, Y. Y., Ford, D. C., & Schwarcz, H. P. 1994. Luminescent microbanding in speleothems : High-resolution chronology and paleoclimate. *Geology*, **22**(5), 407–410.
- Shopov, YY., Dermendjiev, V., & Buyukliev, G. 1989. Investigation on the variations of climate and solar activity by a new method-LLMZA of cave flowstone from bulgaria. *In : Proceedings of the 10th international congress of speleology*, vol. 1.
- Simmleit, N., & Herrmann, R. 1987. The behavior of hydrophobic, organic micropollutants in different karst water systems. *Water, air, and soil pollution*, **34**(1), 79–95.
- Simon, K. S., Pipan, T., Ohno, T., & Culver, D. C. 2010. Spatial and temporal patterns in abundance and character of dissolved organic matter in two karst aquifers. *Fundamental and applied limnology/archiv für hydrobiologie*, **177**(2), 81–92.
- Simonneau, A., Doyen, E., Chapron, E., Millet, L., Vanniere, B., Giovanni, C. Di, Bossard, N., Tachikawa, K., Bard, E., Alberic, P., Desmet, M., Roux, G., Lajeunesse, P., Berger, J.F., & Arnaud, F. 2013. Holocene land-use evolution and associated soil erosion in the French Prealps inferred from Lake Paladru sediments and archaeological evidences. *Journal of archaeological science*, **40**(4), 1636–1645.
- Simonneau, A., Chapron, E., Garcon, M., Winiarski, T., Graz, Y., Chauvel, C., Debret, M., Motelica-Heino, M., Desmet, M., & Giovanni, C. Di. 2014. Tracking Holocene glacial and high-altitude alpine environments fluctuations from minerogenic and organic markers in proglacial lake sediments (Lake Blanc Huez, Western French Alps). *Quaternary science reviews*, **89**, 27–43.
- Simpson, A. J. 2002. Determining the molecular weight, aggregation, structures and interactions of natural organic matter using diffusion ordered spectroscopy. *Magnetic resonance in chemistry*, **40**(13), S72–S82.
- Sitch, S., Brovkin, V., von Bloh, W., van Vuuren, D., Eickhout, B., & Ganopolski, A. 2005. Impacts of future land cover changes on atmospheric CO₂ and climate. *Global biogeochemical cycles*, **19**(2).
- Smailer, S. M., & White, W. B. 2013. The luminescent humic substances in speleothems. *Applied geochemistry*, **36**, 132–139.
- Smejkalová, D., & Piccolo, A. 2008. Aggregation and disaggregation of humic supramolecular assemblies by NMR diffusion ordered spectroscopy (DOSY-NMR). *Environmental science & technology*, **42**(3), 699–706.
- Sommer, M., Gerke, H.H., & Deumlich, D. 2008. Modelling soil landscape genesis - a time split approach for hummocky agricultural landscapes. *Geoderma*, **145**(3), 480–493.
- Spötl, C., Fairchild, I. J., & Tooth, A. F. 2005. Cave air control on dripwater geochemistry, Obir Caves (Austria) : Implications for speleothem deposition in dynamically ventilated caves. *Geochimica et cosmochimica acta*, **69**(10), 2451–2468.
- Spötl, C., Mangini, A., & Richards, D. A. 2006. Chronology and paleoenvironment of Marine Isotope Stage 3 from two high-elevation speleothems, Austrian Alps. *Quaternary science reviews*, **25**(9–10), 1127–1136.

- Stedmon, C. A., & Markager, S. 2005. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnology and oceanography*, **50**(2), 686–697.
- Stedmon, C. A., Markager, S., & Bro, R. 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine chemistry*, **82**(3-4), 239–254.
- Stoykova, D., Shopov, Y., Sauro, U., Borsato, A., Cucchi, F., & Forti, P. 2005. High-resolution luminescence speleothem records from Savi Cave, Trieste, NE Italy. *Studi trentini di scienze naturali. acta geologica*, **80**(2003), 169–173.
- Stuiver, M., Grootes, P. M., & Braziunas, T.F. 1995. The GISP2 d18O climate record of the past 16,500 years and the role of the sun, ocean, and volcanoes. *Quaternary research*, **44**(3), 341–354.
- Sundqvist, H. S., Baker, A., & Holmgren, K. 2005. Luminescence variations in fast-growing stalagmites from Uppsala, Sweden. *Geografiska annaler : Series a, physical geography*, **87**(4), 539–548.
- Sutton, R., & Sposito, G. 2005. Molecular structure in soil humic substances : The new view. *Environmental science & technology*, **39**(23), 9009–9015. PMID : 16382919.
- Talbot, M. R., & Johannessen, T. 1992. A high resolution palaeoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth and planetary science letters*, **110**(1-4), 23–37.
- Tan, L., Shen, C.-C., Cai, Y., Lo, L., Cheng, H., & An, Z. 2014. Trace-element variations in an annually layered stalagmite as recorders of climatic changes and anthropogenic pollution in Central China. *Quaternary research*, **81**(2), 181–188.
- Tan, M., Liu, T.S., Hou, J.Z., Qin, X.G., Zhang, H.C., & Li, T.Y. 2003. Cyclic rapid warming on centennial-scale revealed by a 2650-year stalagmite record of warm season temperature. *Geophysical research letters*, **30**, 191–194.
- Tan, M., Baker, A., Genty, D., Smith, C., Esper, J., & Cai, B. 2006. Applications of stalagmite laminae to paleoclimate reconstructions : Comparison with dendrochronology/climatology. *Quaternary science reviews*, **25**(17-18), 2103–2117.
- Theurillat, J-P., & Guisan, A. 2001. Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps : A review. *Climatic change*, **50**(1-2), 77–109.
- Theurillat, J-P., Felber, F., Geissler, P., Gobat, J-M., Fierz, M., Fischlin, A., Küpfer, P., Schlüssel, A., Velluti, C., Zhao, G., *et al.* . 1998. *Views from the alps : Regional perspectives on climate change*. MIT Press, Cambridge. Chap. Sensitivity of plant and soil ecosystems of the Alps to climate change, pages 225–308.
- Thuille, A., & Schulze, E-D. 2006. Carbon dynamics in successional and afforested spruce stands in Thuringia and the Alps. *Global change biology*, **12**(2), 325–342.
- Tieszen, Larry L. 1991. Natural variations in the carbon isotope values of plants : Implications for archaeology, ecology, and paleoecology. *Journal of archaeological science*, **18**(3), 227–248.
- Tinner, W., Conedera, M., Gobet, E., Hubschmid, P., Wehrli, M., & Ammann, B. 2000. A palaeoecological attempt to classify fire sensitivity of trees in the southern Alps. *The holocene*, **10**(5), 565–574.
- Tinner, W., Lotter, A. F., Ammann, B., Conedera, M., Hubschmid, P., van Leeuwen, J. F.N., & Wehrli, M. 2003. Climatic change and contemporaneous land-use phases north and south of the Alps 2300 BC to 800 AD. *Quaternary science reviews*, **22**(14), 1447–1460.

- Tissier, G., Perrette, Y., Dzikowski, M., Poulenard, J., Hobléa, F., Malet, E., & Fanget, B. 2013. Seasonal changes of organic matter quality and quantity at the outlet of a forested karst system (La Roche Saint Alban, French Alps). *Journal of hydrology*, **482**, 139–148.
- Tivet, F., de Moraes Sá, J. C., Lal, R., Milori, D. M. B. Pereira, Briedis, C., Letourmy, P., Pinheiro, L. A., Borszowski, P. R., & da Cruz Hartman, D. 2013. Assessing humification and organic C compounds by laser-induced fluorescence and FTIR spectroscopies under conventional and no-till management in Brazilian Oxisols. *Geoderma*, **207-208**, 71–81.
- Tremaine, D. M., & Froelich, P. N. 2013. Speleothem trace element signatures : A hydrologic geochemical study of modern cave dripwaters and farmed calcite. *Geochimica et cosmochimica acta*, **121**, 522–545.
- Tremaine, D. M., Froelich, P. N., & Wang, Y. 2011. Speleothem calcite farmed in situ : Modern calibration of d18O and d13C paleoclimate proxies in a continuously-monitored natural cave system. *Geochimica et cosmochimica acta*, **75**(17), 4929–4950.
- Tremaine, DM, Froelich, PN, Kowalczk, A, & Kilgore, B. 2009. Speleothem paleoclimatology and modern proxies : Calcite farming in a continuously monitored cave. *Page 1513 of : Agu fall meeting abstracts*, vol. 1.
- Tremolada, P., Villa, S., Bazzarin, P., Bizzotto, E., Comolli, R., & Vighi, M. 2008. POPs in mountain soils from the Alps and Andes : Suggestions for a precipitation effect on altitudinal gradients. *Water, air, and soil pollution*, **188**(1-4), 93–109.
- Tremolada, P., Parolini, M., Binelli, A., Ballabio, C., Comolli, R., & Provini, A. 2009. Seasonal changes and temperature-dependent accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in high-altitude soils. *Science of the total environment*, **407**(14), 4269–4277.
- Tremolada, P., Guazzoni, N., Smilovich, L., Moia, F., & Comolli, R. 2012. The effect of the organic matter composition on POP accumulation in soil. *Water, air, & soil pollution*, **223**(7), 4539–4556.
- Valsecchi, V., Carraro, G., Conedera, M., & Tinner, W. 2010. Late-Holocene vegetation and land-use dynamics in the Southern Alps (Switzerland) as a basis for nature protection and forest management. *The holocene*, **20**(4), 483–495.
- van Beynen, P., Ford, D., & Schwarcz, H. 2000. Seasonal variability in organic substances in surface and cave waters at marengo cave, indiana. *Hydrological processes*, **14**(7), 1177–1197.
- van Beynen, P., Bourbonniere, R., Ford, D., & Schwarcz, H. 2001. Causes of colour and fluorescence in speleothems. *Chemical geology*, **175**(3-4), 319–341.
- Van Brummelen, T.C., Verweij, R.A., Wedzinga, S.A., & Van Gestel, C.A.M. 1996. Enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in forest soils near a blast furnace plant. *Chemosphere*, **32**(2), 293–314.
- Varhola, A., Coops, N. C., Weiler, M., & Moore, R. D. 2010. Forest canopy effects on snow accumulation and ablation : An integrative review of empirical results. *Journal of hydrology*, **392**(3-4), 219–233.
- Verheyden, S., Genty, D., Deflandre, G., Quinif, Y., & Keppens, E. 2008. Monitoring climatological, hydrological and geochemical parameters in the Pere Noël cave (Belgium) : implication for the interpretation of speleothem isotopic and geochemical time-series. *International journal of speleology*, 221–234.
- Vives, I., Grimalt, J. O., Fernández, P., & Rosseland, B. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish from remote and high mountain lakes in europe and greenland. *Science of the total environment*, **324**, 67–77.

- Vollweiler, N., Scholz, D., Mühlinghaus, C., Mangini, A., & Spötl, C. 2006. A precisely dated climate record for the last 9 kyr from three high alpine stalagmites, Spannagel Cave, Austria. *Geophysical research letters*, **33**(20). L20703.
- Wackerbarth, A., Scholz, D., Fohlmeister, J., & Mangini, A. 2010. Modelling the d18O value of cave drip water and speleothem calcite. *Earth and planetary science letters*, **299**(3-4), 387–397.
- Wainer, K., Genty, D., Blamart, D., Daëron, M., Bar-Matthews, M., Vonhof, H., Dublyansky, Y., Pons-Branchu, E., Thomas, L., van Calsteren, P., *et al.* . 2011. Speleothem record of the last 180 ka in Villars cave (SW France) : Investigation of a large $\delta^{18}\text{O}$ shift between MIS6 and MIS5. *Quaternary science reviews*, **30**(1), 130–146.
- Wang, G., Feng, X., Han, J., Zhou, L., Tan, W., & Su, F. 2008. Paleovegetation reconstruction using d13C of soil organic matter. *Biogeosciences discussions*, **5**(2), 1795–1823.
- Wang, G., Li, J., Liu, X., & Li, X. 2013. Variations in carbon isotope ratios of plants across a temperature gradient along the 400 mm isoline of mean annual precipitation in north China and their relevance to paleovegetation reconstruction. *Quaternary science reviews*, **63**, 83–90.
- Wania, F., & Westgate, J. N. 2008. On the mechanism of mountain cold-trapping of organic chemicals. *Environmental science & technology*, **42**(24), 9092–9098. PMID : 19174876.
- Wania, F., Mackay, D., & Hoff, J. T. 1999. The importance of snow scavenging of polychlorinated biphenyl and polycyclic aromatic hydrocarbon vapors. *Environmental science & technology*, **33**(1), 195–197.
- Wanner, H., Beer, J., Bütikofer, J., Crowley, T. J., Cubasch, U., Flückiger, J., Goosse, H., Grosjean, M., Joos, F., Kaplan, J. O., Küttel, M., Müller, S. A., Prentice, I. C., Solomina, O., Stocker, T. F., Tarasov, P., Wagner, M., & Widmann, M. 2008. Mid- to Late Holocene climate change : an overview. *Quaternary science reviews*, **27**(19-20), 1791–1828.
- Wanner, H., Solomina, O., Grosjean, M., Ritz, S. P., & Jetel, M. 2011. Structure and origin of Holocene cold events. *Quaternary science reviews*, **30**(21-22), 3109–3123.
- Webb, M., Dredge, J., Barker, P. A., Maller, W., Jex, C., C. anJexesmarchelier J., Hellstrom, J., & Wynn, P. M. 2014. Quaternary climatic instability in south-east Australia from a multi-proxy speleothem record. *Journal of quaternary science*, **29**(6), 589–596.
- Weijers, J. W.H., Schouten, S., van den Donker, J. C., Hopmans, E. C., & Damsté, J. S. Sinninghe. 2007. Environmental controls on bacterial tetraether membrane lipid distribution in soils. *Geochimica et cosmochimica acta*, **71**(3), 703–713.
- Wershaw, Robert L. 2004. Evaluation of conceptual models of natural organic matter (humus) from a consideration of the chemical and biochemical processes of humification. *Usgs - scientific investigations report 2004-5121*.
- White, W. B., & Brennan, E. S. 1989. Luminescence of speleothems due to fulvic acid and other activators. *In : Proceedings of the 10th international congress of speleology*, vol. 1.
- Wick, L., van Leeuwen, J. F.N., van der Knaap, W. O., & Lotter, A. F. 2003. Holocene vegetation development in the catchment of Sägistalsee (1935 m asl), a small lake in the Swiss Alps. *Journal of paleolimnology*, **30**(3), 261–272.
- Wickliffe, J., Overton, E., Frickel, S., Howard, J., Wilson, M., Simon, B., Echsner, S., Nguyen, B., Gauthe, D., Blake, D., Miller, C., Elferink, C., Ansari, S., Fernando, H., Trapido, E., & Kane, A. 2014. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons using analytical methods, toxicology, and risk assessment research : Seafood safety after a petroleum spill as an example. *Environmental health perspectives*, **122**(1), 6–9.

- Wiesenberg, GLB., Andreeva, DB., Chimitdorgieva, GD., Erbajeva, MA., & Zech, W. 2015. Reconstruction of environmental changes during the late glacial and Holocene reflected in a soil-sedimentary sequence from the lower Selenga River valley, Lake Baikal region, Siberia, assessed by lipid molecular proxies. *Quaternary international*, **365**, 190–202.
- Wilcke, W. 2000. SYNOPSIS polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil - a Review. *Journal of plant nutrition and soil science*, **163**(3), 229–248.
- Wilhelm, B. 2007. *Étude spéléogénétique dun karst sous couverture dans les Préalpes septentrionales*. Master 1 géographie, Université de Savoie.
- Willeit, M., Ganopolski, A., Dalmonech, D., Foley, A. M., & Feulner, G. 2014. Time-scale and state dependence of the carbon-cycle feedback to climate. *Climate dynamics*, **42**(7-8), 1699–1713.
- Williams, P. W., & Fowler, A. 2002. Relationship between oxygen isotopes in rainfall, cave percolation waters and speleothem calcite at Waitomo, New Zealand. *Journal of hydrology (n2)*, **41**(1), 53–70.
- Williams, P. W., King, D. N.T., Zhao, J.-X., & Collerson, K. D. 2004. Speleothem master chronologies : combined Holocene 18O and 13C records from the North Island of New Zealand and their palaeoenvironmental interpretation. *The holocene*, **14**(2), 194–208.
- Williams, P.W., King, D.N.T., Zhao, J.-X., & Collerson, K.D. 2005. Late Pleistocene to Holocene composite speleothem 18O and 13C chronologies from South Island, New Zealand-did a global Younger Dryas really exist ? *Earth and planetary science letters*, **230**(3-4), 301–317.
- Wohlfahrt, J., Harrison, S.P., & Braconnot, P. 2004. Synergistic feedbacks between ocean and vegetation on mid- and high-latitude climates during the mid-Holocene. *Climate dynamics*, **22**(2-3), 223–238.
- Wramneby, A., Smith, B., & Samuelsson, P. 2010. Hot spots of vegetation-climate feedbacks under future greenhouse forcing in Europe. *Journal of geophysical research : Atmospheres*, **115**(D21). D21119.
- WRB, World Reference Base. 2006. *A framework for international classification, correlation and communication*. Tech. rept. FAO, Roma.
- Wuchter, C., Schouten, S., Coolen, M. J. L., & Sinninghe Damsté, J. S. 2004. Temperature-dependent variation in the distribution of tetraether membrane lipids of marine Crenarchaeota : Implications for TEX86 paleothermometry. *Paleoceanography*, **19**(4), n/a–n/a. PA4028.
- Wurth, G., Niggemann, S., Richter, D. K., & Mangini, A. 2004. The Younger Dryas and Holocene climate record of a stalagmite from Holloch Cave (Bavarian Alps, Germany). *Journal of quaternary science*, **19**(3), 291–298.
- Wynn, P. M., & Brocks, J. J. 2014. A framework for the extraction and interpretation of organic molecules in speleothem carbonate. *Rapid communications in mass spectrometry*, **28**(8), 845–854.
- Xie, S., Yi, Y., Huang, J., Hu, C., Cai, Y., Collins, M., & Baker, A. 2003. Lipid distribution in a subtropical southern China stalagmite as a record of soil ecosystem response to paleoclimate change. *Quaternary research*, **60**(3), 340–347.
- Xie, S., Huang, J., Wang, H., Yi, Y., Hu, C., Cai, Y., & Cheng, H. 2005. Distributions of fatty acids in a stalagmite related to paleoclimate change at Qingjiang in Hubei, southern China. *Science in china series d : Earth sciences*, **48**(9), 1463–1469.
- Xie, X., Wang, S., Zhou, Y., & Luo, W. 2008. Three-dimensional fluorescence spectral characteristics of dissolved organic carbon in cave drip waters and their responses to environment changes : Four cave systems as an example in Guizhou Province, China. *Chinese science bulletin*, **53**(6), 884–889.

- Yang, H., Ding, W., Zhang, C. L., Wu, X., Ma, X., He, G., Huang, J., & Xie, S. 2011. Occurrence of tetraether lipids in stalagmites : Implications for sources and GDGT-based proxies. *Organic geochemistry*, **42**(1), 108–115.
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., & Tao, S. 2010. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. *Environmental pollution*, **158**(6), 2170–2174. Advances of air pollution science : from forest decline to multiple-stress effects on forest ecosystem services.
- Zanchetta, G., Drysdale, R.N., Hellstrom, J.C., Fallick, A.E., Isola, I., Gagan, M.K., & Pareschi, M.T. 2007. Enhanced rainfall in the Western Mediterranean during deposition of sapropel S1 : stalagmite evidence from Corchia cave (Central Italy). *Quaternary science reviews*, **26**(3-4), 279–286.
- Zhang, W., Wu, J., Wang, Y., Wang, Y., Cheng, H., Kong, X., & Duan, F. 2014. A detailed East Asian monsoon history surrounding the Mystery Interval derived from three Chinese speleothem records. *Quaternary research*, **82**(1), 154–163.
- Zhou, J., Xue, K., Xie, J., Deng, Y., Wu, L., Cheng, X., Fei, S., Deng, S., He, Z., Van Nostrand, J. D., *et al.* . 2012. Microbial mediation of carbon-cycle feedbacks to climate warming. *Nature climate change*, **2**(2), 106–110.
- Zhu, J., Lücke, A., Wissel, H., Müller, D., Mayr, C., Ohlendorf, C., & Zolitschka, B. 2013. The last Glacial-Interglacial transition in Patagonia, Argentina : the stable isotope record of bulk sedimentary organic matter from Laguna Potrok Aike. *Quaternary science reviews*, **71**, 205–218.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Remerciements	vii
1 Introduction générale	1
1.1 Paléoclimat	1
1.2 L'environnement au centre des interactions Homme-Climat	2
1.3 Sensibilité des milieux de montagne	4
1.4 Le sol, témoin des changements environnementaux	5
1.5 Les spéléothèmes : des archives pédologiques	9
1.6 Problématique	11
2 Contexte de l'étude	15
2.1 Site d'étude	15
2.1.1 Climat des Bauges	15
2.1.2 Sols et végétation	19
2.1.3 Pression anthropique	22
2.1.4 Système karstique et géologie	26
2.1.5 Fonctionnement hydrologique	29
2.1.6 Contexte paléoenvironnemental	31
2.2 Les spéléothèmes de Garde-Cavale	33
2.2.1 Modèles d'âge	34
2.2.2 Description des échantillons	39
3 Les proxys organiques émergents	45
3.1 Matière organique et concepts moléculaires	47
3.1.1 Le concept "polymère"	47
3.1.2 Le concept d'association supramoléculaire	48
3.2 Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique	50
3.2.1 État de l'art	50

3.2.1.1	Signature végétale	51
3.2.1.2	Signature pédologique	53
3.2.1.3	Variation saisonnière du signal	54
3.2.1.4	Le $\delta^{13}\text{C}$ des spéléothèmes	57
3.2.2	Méthodologie de l'extraction et de la mesure du $\delta^{13}\text{C}_{\text{MO}}$	58
3.2.2.1	Échantillons	58
3.2.2.2	Procédure d'extraction	59
3.2.2.3	Analyse	60
3.2.3	Résultats méthodologiques	63
3.2.3.1	Université de LaTrobe	63
3.2.3.2	ISTO, Université d'Orléans	67
3.2.3.3	Comparaison inter-laboratoire	70
3.3	Les HAP, marqueurs des pollutions anthropiques	73
3.3.1	État de l'art	73
3.3.1.1	Nature et source des HAP	73
3.3.1.2	Sensibilité des milieux de montagne aux HAP	73
3.3.1.3	Facteurs d'influence de la dynamique des HAP	76
3.3.1.4	Les HAP en milieu karstique et dans les spéléothèmes	80
3.3.2	Développement de la technique d'extraction et d'analyse des HAP	82
3.3.2.1	Protocole initial d'extraction des HAP	82
3.3.2.2	Amélioration du protocole	84
3.3.2.3	Analyse	89
3.3.3	Résultats méthodologiques	90
3.3.3.1	Qualité de la méthode	90
3.3.3.2	Reproductibilité de l'extraction	92
3.4	Les lipides, proxys des relations sol-végétation	95
3.4.1	État de l'art	95
3.4.1.1	Les lipides des spéléothèmes	95
3.4.1.2	Limites des méthodes et applications	98
3.4.2	Méthodologie pour l'extraction et la mesure des lipides	102
3.4.2.1	Echantillons	102
3.4.2.2	Procédure d'extraction	102
3.4.2.3	Analyse	103
3.4.3	Résultats méthodologiques	103
3.5	Conclusions	104
4	La fluorescence de la matière organique	105
4.1	État de l'art	105
4.1.1	Signal de fluorescence de la matière organique	105
4.1.2	Utilisation de la fluorescence dans les spéléothèmes	109
4.1.2.1	Signal de la fluorescence dans les eaux d'écoulement : des sols aux spéléothèmes	110

4.1.2.2	Interprétation du signal de fluorescence dans les spéléothèmes	114
4.1.2.3	Mesure du signal de fluorescence dans les spéléothèmes	117
4.2	Méthodologie de la mesure de fluorescence en phase solide	121
4.2.1	Principe de mesure et montage expérimental	121
4.2.2	Traitement des données	124
4.3	Développement méthodologique : la quantification du signal de fluorescence	128
4.3.1	Résumé étendu : Quiers et al. (2015)	128
4.3.2	Résultats méthodologiques	137
4.3.2.1	Mesures réalisées	137
4.3.2.2	Qualité de l'ajustement des spectres	138
4.3.2.3	Détermination des proxies	141
4.3.2.4	Comparaison avec la méthode PARAFAC	145
4.3.2.5	Caractéristiques des spectres de fluorescence des spéléothèmes de Garde-Cavale	148
4.3.2.6	Construction des profils de fluorescence	150
4.3.2.7	Correction de l'effet de la matrice sur le signal de fluorescence	156
4.3.2.8	Profils en fonction des modèles d'âges	158
4.4	Conclusions	158
5	Interprétation des changements environnementaux à la Féclaz durant l'Holocène.	161
5.1	Réplication du signal	161
5.1.1	Le $\delta^{18}\text{O}$	162
5.1.2	Le $\delta^{13}\text{C}$	164
5.1.3	La fluorescence de la matière organique	166
5.1.4	La réflectance Infra-Rouge	168
5.1.5	Le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique	169
5.1.6	Les éléments trace	170
5.2	Signal environnemental des stalagmites de Garde-Cavale	173
5.2.1	Notions pour la comparaison d'archives	175
5.2.2	Phase 1 : de 5100 à 3200 ans B.P.	176
5.2.2.1	Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation	176
5.2.2.2	Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation	181
5.2.2.3	Un optimum climatique et pédologique	183
5.2.2.4	Forçage orbital et refroidissement global du climat	184
5.2.2.5	L'absence d'empreinte de la dégradation Néoglaciale	186
5.2.3	Phase 2 : de 3200 ans à 2050 ans B.P.	187
5.2.3.1	Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation	188
5.2.3.2	Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation	190

5.2.3.3	Interprétation	191
5.2.4	Phase 3 : de 2050 ans à 850 ans B.P.	193
5.2.4.1	Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation	193
5.2.4.2	Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation	193
5.2.4.3	Dégradation climatique	195
5.2.4.4	La période romaine	196
5.2.4.5	L'Âge sombre : 1600-1200 ans B.P.	197
5.2.4.6	L'optimum médiéval climatique	200
5.2.5	Phase 4 : de 850 ans B.P. à aujourd'hui	200
5.2.5.1	Le $\delta^{18}\text{O}$: hypothèses d'interprétation	201
5.2.5.2	Le signal de fluorescence de la matière organique : hypothèses d'interprétation	201
5.2.5.3	Une déforestation importante	202
5.2.5.4	Le PAG	202
5.3	Synthèse	204
5.4	Perspectives d'aide à l'interprétation	206
5.4.1	Calibration sur les données actuelles	206
5.4.2	Le carbone	208
5.4.3	Les éléments traces	208
5.4.3.1	Indications sur la pluviométrie	208
5.4.3.2	Indications sur le signal sol-végétation	209
	Conclusion générale	211
	Bibliographie	242
	Annexes	247
	Annexe 1 - Article Quiers <i>et al.</i> , 2015	250
	Annexe 2 - Tableau des paramètres de simulation des spectres	258
	Annexe 3 - Cartes d'intensités des différents fluorophores simulés	259
	Annexe 4 - Code Matlab utilisé pour la simulation des spectres de fluorescence	261
	Annexe 5 - Poster présenté au Congrès ASF 2013	268

Annexes

Annexe 1 - Article Quiers *et al.*, 2015

Chemical Geology 411 (2015) 240–247



Contents lists available at ScienceDirect

Chemical Geology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemgeo

Geochemical mapping of organic carbon in stalagmites using liquid-phase and solid-phase fluorescence

Marine Quiers ^{*}, Yves Perrette, Emilie Chalmin, Bernard Fanget, Jérôme Poulenard

EDYTEM, Université de Savoie, Bâtiment Pole Montagne, Campus Scientifique, 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 January 2015

Received in revised form 7 July 2015

Accepted 8 July 2015

Available online 11 July 2015

Keywords:

Solid-phase fluorescence

Liquid-phase fluorescence

Organic carbon concentration

Speleothem

Geochemical mapping

ABSTRACT

The soil-derived organic matter incorporated in speleothems provides a proxy for the impacts of climate and environmental changes on the surrounding catchment. These organic proxies, combined with inorganic proxies, can be used to investigate variations in carbon fluxes. The present article describes a method for obtaining high spatial-resolution estimations of speleothem organic carbon concentrations by using the relationship between liquid phase fluorescence and the organic carbon contents of soil samples. Applying this method to soil and stalagmite samples from three locations in the French Prealps gave estimated stalagmite carbon concentrations of between 0.27 and 3.03 mg C/g of calcite, which are consistent with measured concentrations reported in the literature. We assessed the high-resolution reliability of our procedure by comparing TOC estimations with solid phase fluorescence values for samples taken every 2-mm along one of the stalagmites (TAM). Due to variations in the optical properties (e.g., optical density) of the calcite, revealed by Near Infra Red Reflectance, it was necessary to draw up a nonlinear model in order to obtain good estimates ($R^2 = 0.81$) of organic carbon concentrations from solid-phase fluorescence results. The resulting high-resolution map of organic carbon concentrations along the TAM sample was consistent with the recent history of the area's environment. Our results show that variations in carbon flux in mountain karst environments are strongly linked to changes affecting the area's soils.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Since studies first demonstrated the presence of organic matter (OM) entrapped in calcite (Baker *et al.*, 1996; Ramseyer *et al.*, 1997), a number of organic components of speleothems are being used as proxies for investigating changes in soils, vegetation, and climate (e.g., Baker *et al.*, 1998; Blyth and Schouten, 2013; Blyth *et al.*, 2011, 2013, 2014; Bosle *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014; Perrette *et al.*, 2005, 2008; Webb *et al.*, 2014).

Combining data obtained from organic and inorganic proxies has provided insight into variations in carbon fluxes in karst environments (e.g. Baker and Genty, 1999; McGarry and Baker, 2000); however, current organic carbon quantification procedures need to be improved before speleothems can be used as high-resolution records of carbon flux, which are a major issue in the climate change context (Ciais *et al.*, 2013). In fact, carbon measurement procedures described in the literature are either quantitative but low-resolution destructive methods (Blyth *et al.*, 2013; Hartland *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014;

Ramseyer *et al.*, 1997; Smaller and White, 2013; Van Beynen *et al.*, 2001) or semi-quantitative but high-resolution spectroscopic methods (Baker *et al.*, 1996, 1997). Spectroscopic techniques have also been used to determine the organic carbon concentrations of karst waters (Charlier *et al.*, 2010; Tissier *et al.*, 2013). In the present research, we applied this approach to speleothems via a new procedure in which spectroscopic analyses are combined with a carbon extraction method that consumes only small amounts of material. Although solid-phase fluorescence has become a commonly used technique for analyzing speleothems (Crowell and White, 2012; Orland *et al.*, 2014; Perrette *et al.*, 2005; Webb *et al.*, 2014), results have to be interpreted with caution (McGarry and Baker, 2000). In addition, quantifying the organic carbon content of speleothems requires a large amount of calcite for the solid/liquid extraction phase (Blyth *et al.*, 2013; Hartland *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014; Ramseyer *et al.*, 1997; Van Beynen *et al.*, 2001), which is incompatible with studies of carbon fluxes over short time-scales and prevents results being combined with high-resolution solid phase fluorescence (SPF) analyses.

Although some recent works show that organic matter in speleothem can also be sourced from microbial input (e.g. Blyth *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2011), it is assumed that bulk organic matter entrapped in speleothems is provided by soils (Baker *et al.*, 1996; White and Brennan, 1989), and highlighted in studies comparing speleothem and dripwaters fluorescence (Hartland *et al.*, 2014; Li

Abbreviations: \hat{C} , Predicted carbon concentration; LPF, liquid phase fluorescence; NIRr, near infra-red reflectance; OM, organic matter; SPF, solid phase fluorescence; TOC, total organic carbon; QS, quinine-sulfate; QSU, quinine-sulfate units; WEOM, water extractable organic matter.

^{*} Corresponding author.

E-mail address: marine.quiers@univ-smb.fr (M. Quiers).



Geochemical mapping of organic carbon in stalagmites using liquid-phase and solid-phase fluorescence



Marine Quiers*, Yves Perrette, Emilie Chalmin, Bernard Fanget, Jérôme Poulenard

EDYTEM, Université de Savoie, Bâtiment Pole Montagne, Campus Scientifique, 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 January 2015

Received in revised form 7 July 2015

Accepted 8 July 2015

Available online 11 July 2015

Keywords:

Solid-phase fluorescence

Liquid-phase fluorescence

Organic carbon concentration

Speleothem

Geochemical mapping

ABSTRACT

The soil-derived organic matter incorporated in speleothems provides a proxy for the impacts of climate and environmental changes on the surrounding catchment. These organic proxies, combined with inorganic proxies, can be used to investigate variations in carbon fluxes. The present article describes a method for obtaining high spatial-resolution estimations of speleothem organic carbon concentrations by using the relationship between liquid phase fluorescence and the organic carbon contents of soil samples. Applying this method to soil and stalagmite samples from three locations in the French Prealps gave estimated stalagmite carbon concentrations of between 0.27 and 3.03 mg C/g of calcite, which are consistent with measured concentrations reported in the literature. We assessed the high-resolution reliability of our procedure by comparing TOC estimations with solid phase fluorescence values for samples taken every 2-mm along one of the stalagmites (TAM). Due to variations in the optical properties (e.g., optical density) of the calcite, revealed by Near Infra Red Reflectance, it was necessary to draw up a nonlinear model in order to obtain good estimates ($R^2 = 0.81$) of organic carbon concentrations from solid-phase fluorescence results. The resulting high-resolution map of organic carbon concentrations along the TAM sample was consistent with the recent history of the area's environment. Our results show that variations in carbon flux in mountain karst environments are strongly linked to changes affecting the area's soils.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Since studies first demonstrated the presence of organic matter (OM) entrapped in calcite (Baker et al., 1996; Ramseyer et al., 1997), a number of organic components of speleothems are being used as proxies for investigating changes in soils, vegetation, and climate (e.g., Baker et al., 1998; Blyth and Schouten, 2013; Blyth et al., 2011, 2013, 2014; Bosle et al., 2014; Li et al., 2014; Perrette et al., 2005, 2008; Webb et al., 2014).

Combining data obtained from organic and inorganic proxies has provided insight into variations in carbon fluxes in karst environments (e.g. Baker and Genty, 1999; McGarry and Baker, 2000); however, current organic carbon quantification procedures need to be improved before speleothems can be used as high-resolution records of carbon flux, which are a major issue in the climate change context (Ciais et al., 2013). In fact, carbon measurement procedures described in the literature are either quantitative but low-resolution destructive methods (Blyth et al., 2013; Hartland et al., 2014; Li et al., 2014;

Ramseyer et al., 1997; Smailier and White, 2013; Van Beynen et al., 2001) or semi-quantitative but high-resolution spectroscopic methods (Baker et al., 1996, 1997). Spectroscopic techniques have also been used to determine the organic carbon concentrations of karst waters (Charlier et al., 2010; Tissier et al., 2013). In the present research, we applied this approach to speleothems via a new procedure in which spectroscopic analyses are combined with a carbon extraction method that consumes only small amounts of material. Although solid-phase fluorescence has become a commonly used technique for analyzing speleothems (Crowell and White, 2012; Orland et al., 2014; Perrette et al., 2005; Webb et al., 2014), results have to be interpreted with caution (McGarry and Baker, 2000). In addition, quantifying the organic carbon content of speleothems requires a large amount of calcite for the solid/liquid extraction phase (Blyth et al., 2013; Hartland et al., 2014; Li et al., 2014; Ramseyer et al., 1997; Van Beynen et al., 2001), which is incompatible with studies of carbon fluxes over short time-scales and prevents results being combined with high-resolution solid phase fluorescence (SPF) analyses.

Although some recent works show that organic matter in speleothem can also be sourced from microbial input (e.g. Blyth et al., 2014; Yang et al., 2011), it is assumed that bulk organic matter entrapped in speleothems is provided by soils (Baker et al., 1996; White and Brennan, 1989), and highlighted in studies comparing speleothem and dripwaters fluorescence (Hartland et al., 2014; Li

Abbreviations: \hat{C} , Predicted carbon concentration; LPF, liquid phase fluorescence; NIRR, near infra-red reflectance; OM, organic matter; SPF, solid phase fluorescence; TOC, total organic carbon; QS, quinine-sulfate; QSU, quinine-sulfate units; WEOM, water extractable organic matter.

* Corresponding author.

E-mail address: marine.quiers@univ-smb.fr (M. Quiers).

et al., 2014). We developed in this study a procedure for determining a speleothem's Total Organic Carbon (TOC) content by combining speleothem OM Liquid-Phase Fluorescence (LPF) measurements with LPF and TOC values for a bank of local soil leachates considered to represent both the spatial and the past evolution of soils. The present article describes how we applied this new procedure to three speleothems and discusses the use of solid-phase fluorescence to estimate and map speleothem organic carbon concentrations, and thereby reconstruct local carbon fluxes in karst environments.

2. Material and method

2.1. Speleothem samples

We tested our TOC quantification procedure on three stalagmites from similar mountain environments in the northern French Prealps (Fig. 1 and Fig. A in supplementary information) – the Garde-Cavale cave system and the “Ferme” cave, both of which are in the Bauges Massif, and the Choranche cave system in the Vercors Massif. The Garde-Cavale cave system lies below the Nivolet-Revard Plateau in the western part of the Bauges Massif. It consists of 42.8 km of passages, between 1380 m and 1055 m a.s.l., developed in Urgonian and Valanginian limestones. Vegetation above the system is a mixture of beech and spruce forest, and pastured grassland. The sampled stalagmite is in a 30-m-deep chamber (“Précieux Chamber”), whose roof is made of calcite-cemented sandstone decorated with soda-straws showing slow and regular percolation. It is 60-cm long, massive, orangey-brown in color, and composed of alternating zones of porous and compact monocrystalline calcite (Fig. 1). A full paleoenvironmental study of this early Holocene stalagmite is ongoing. We extracted two samples from the edge (around –4700 yr B.P.) of the lower part of the stalagmite (GC1) and the porous calcite (GC2). Environment during the first middle part of Holocene is mainly characterized by forest and poor

developed soils (Giguët-Covex et al., 2011), assumed to be similar to those of today.

The “Ferme” cave also lies below the Nivolet-Revard Plateau. It is a 65-m linear passage that follows the dip ($\sim 10^\circ\text{E}$) of the surrounding Hauterivian marly limestone. We sampled a 10-mm-long stalagmite that is growing 25 m from the cave entrance at a depth of less than 10 m and directly below a dairy farm. This modern, active stalagmite is fed by fast flows that follow the joint network through the marly limestone. It consists of two sections of compact columnar calcite separated by a detrital layer (clay and oxides). Both sections of columnar calcite are yellow to orange in color, although the more modern calcite has a greenish hue (Fig. 1). As our goal was simply to test our carbon quantification procedure on a stalagmite from an environment modified by human activity (dairy farm), rather than carry out a detailed environmental analysis, we did not obtain U/Th ages for the samples. We extracted three samples from the stalagmite. FER1 was taken from the lowest and oldest part below the detrital layer and is assumed to be undisturbed due to the calcite coalescence and the absence of inclusion. FER2 and FER3 were taken above the detrital layer, from areas of compact and porous calcite, respectively. Regarding growth rate, dripwater mineralization and ancient cadastral documentation, FER3 can surely be associated with the dairy farm presence. The case of FER2 could be less evident; however, the comparison of TOC estimations and fluorescence spectra shows that this sample could also be associated to the presence of the dairy farm.

The “Choranche” system lies within the broad anticline of the Coulmes Plateau. It rises at the bottom of the Urgonian (Barremo-Bedoulain) scarp that forms the northern side of the Bourne Gorge. The sample we used for this study was part of a borehole core taken in 1996 from a stalagmite growing in the Cathedral Chamber ($N 45^\circ 5'$, $E 5^\circ 2'$, 610 m a.s.l.) of the Chevaline Cave. This stalagmite is fed by two flows: (i) a fast runoff flow that takes less than 3 h to penetrate the 300 m of limestone separating the stalagmite from the surface (unpublished salt tracing results) and (ii) a seepage flow. Vegetation in the watershed feeding the stalagmite is mostly mixed deciduous–coniferous forest and grassland. Previous studies have correlated the characteristics of the top 60 mm of the stalagmite sample with environmental changes that occurred on the plateau. Perrette et al. (2008) drew up an age model for this stalagmite based on distinctive stratigraphic layers, lamina counts, and U/Th dating. This intensively studied sample allowed us to assess the feasibility of combining TOC quantification with high spatial resolution SPF. We took 20 samples from the core's three stratigraphic units (Fig. 1). Samples TAM1 to TAM12 were taken from zone U3, which formed before $1701 \text{ AD} \pm 26 \text{ yr}$. This homogeneous zone is dominated by porous, opaque laminations with occasional thin layers containing clays and charcoal produced by slash and burn agriculture on the plateau. Samples TAM13 to TAM18 were taken from zone U2, which was deposited between $1701 \text{ AD} \pm 26 \text{ yr}$ and $1892 \text{ AD} \pm 8 \text{ yr}$. The calcite in this zone is more porous and contains many mineral and organic particles. The last two samples (TAM19 and TAM20) were taken from zone U1, which was deposited between $1892 \text{ AD} \pm 8 \text{ yr}$ and 1996 AD. This zone consists of compact and translucent calcite with no inclusions.

2.2. Soil samples

In order to take into account all the different types of soil-derived OM that may be entrapped in the speleothems, we took samples of the main soil types from the three study sites. Soils were sampled with a pedologic approach focusing on the soil and vegetation characteristics. The two main soil types found in mountain karst environments are Eutric Cambisol and Folic Leptosol (WRB, 2006), which develop on calcareous substrates. Podzols can form in areas where sandstones overlie karst systems (WRB, 2006), but they are much less common than Cambisols and Leptosols. One of the soils in the recharge area of the Garde Cavale stalagmite is a Podzol. The types of OM supplied by each

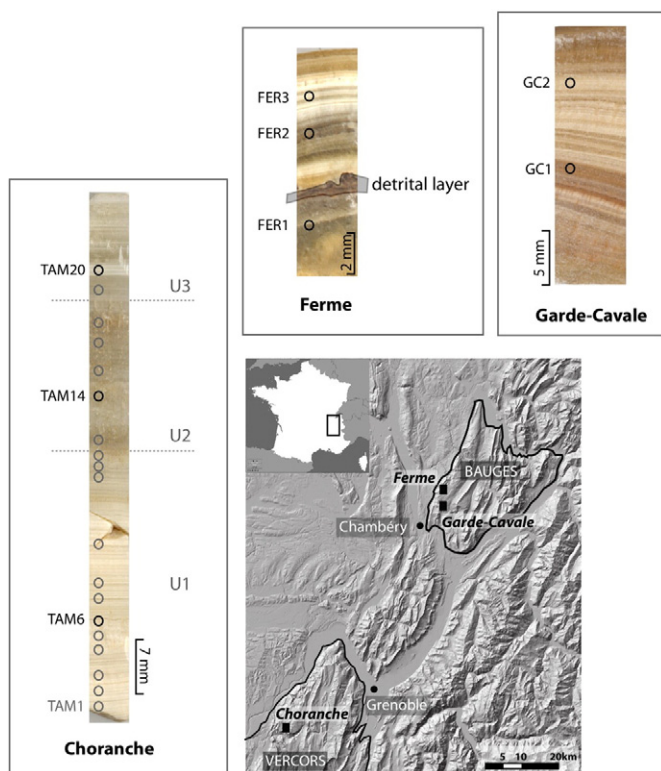


Fig. 1. Location of the karst system, sampling locations, and the corresponding stalagmite sections.

soil depend on its turnover. Cambisols contain well-developed horizons above limestone bedrock. Hydraulic conductivities decrease with depth, with highly porous organic horizons near the surface and much less permeable mineral (clay) horizons at greater depth. Cambisols are characterized by rapid turnover of the humic A-horizon. Follic Leptosols consist of a poorly developed humic horizon that forms directly on top of the limestone bedrock. Leptosols have high hydraulic conductivities and low pHs, due to their low carbonate content. Podzols have well-differentiated horizons. OM is known to accumulate in the A0 and B horizons by metal complexation (van Breemen and Buurman, 2002). As in Cambisols, superficial horizons with high hydraulic conductivities are underlain by less permeable horizons. The highly permeable superficial horizons of these three soil types have been shown to be the main source of OM in groundwaters (Kalbitz et al., 2000).

The Garde Cavale and Ferme samples were taken from speleothems that formed below a plateau covered by beech and spruce forest, grassland, and heathland. We took four soil samples from this area, including a Podzol (sample Bau1), a Eutric Cambisol (Bau2) and a Follic Leptosol (Bau3). Bau4 is a Eutric Cambisol sample that we took from near the dairy farm in order to assess the specific OM flux for the Ferme stalagmite. Details of sampling locations and vegetation are given in Table 1.

The Choranche Cave samples (TAM1 – TAM20) were taken from a stalagmite below the Coulmes Plateau in the western part of the Vercors Massif (Fig. 1). The vegetation on this plateau consists of mixed coniferous-deciduous forest and grasslands. We took one soil sample from this area, Cou1, a Cambisol that developed at an altitude of 1400 m a.s.l. (see Table 1).

Profile for each soil type was triplicated and extraction was repeated three times for each triplicate. The differences between the extraction repetitions and between the soil profile triplicates were negligible, validating the use of one sample by soil type.

2.3. Organic matter extraction

2.3.1. Soil samples

In order to be close of the organic matter extracted from soils in environmental conditions, we used a standard flash water-extraction method to extract Water Extractable Organic Matter (WEOM, e.g. Hassouna et al., 2010). The procedure involved air-drying the soil samples at room temperature before sieving them at 2 mm. We then diluted 6 g of each soil in UHQ water (1:10 soil:solution ratio) and shook the resulting solution for 15 min on a shaking table. It was then centrifuged at 4000 rpm for 10 min in order to water-extract the OM. The supernatant was filtered at 0.45 µm using pre-cleaned microglass filters that had been muffled in an oven at 550 °C and rinsed with 250 ml UHQ water before use. Blanks were made following the same protocol but without adding the soil. For each type of soil, these extractions were realized three times in order to check the repeatability of the method.

2.3.2. Stalagmite samples

We cleaned the stalagmite surfaces using 1 N HCl (Wynn and Brocks, 2014) and then extracted powdered samples using a 1-mm-diameter diamond-tipped hand drill. We carried out acid digestion of the OM entrapped in the calcite using a cleaned HCl solution, prepared by repeatedly shaking HCl with dichloromethane until the fluorescence emission of the HCl was negligible (generally six times, Blyth et al.,

2006). We digested 5 to 6 mg of each powdered calcite sample in 4 ml of 0.012 N HCl and then added 40 µl of 3 N HCl to complete the dissolution. This procedure allowed us to minimize the time OM was exposed to a low pH environment (few seconds) during digestion, and thereby avoid the acidic conditions aggregating/disaggregating clusters of smaller molecules, which can cause conformational changes (Sutton and Sposito, 2005) and the formation of hydrophobic regions (Ferreira et al., 2001; Martin-Neto et al., 2001; Nanny and Kontas, 2002). Such changes occur very slowly (hours to days, Ferreira et al., 2001) compared to the time required for the calcite acid digestion method and, what is more, they are reversible.

The uncertainty for the procedure realized on stalagmites, which includes uncertainties due to microsampling, acid digestion, dilution, and the liquid phase fluorescence measurement, was estimated by replicating each analysis four times for the sample TAM-6. Due to the small sample size of the stalagmites and the good repeatability of the method, not all the samples were replicated and this uncertainty was applied to all stalagmite samples.

2.4. Instrument settings

2.4.1. General parameters

TOC analyses on the soil and blank filtrate solutions were performed using a Shimadzu TOC-V CSN. We determined carbon contents using three or five injections and the non-purgeable organic carbon (NPOC) method. We also carried out UV-vis absorbance measurements on the blanks and on the soil and speleothem solutions using a Varian Cary 50 Scan, from 200 nm to 800 nm. The solutions were analyzed in a quartz cell with a 1-cm path length. Injections were repeated between 3 and 5 times by the device depending on the standard deviation quality, to evaluate uncertainties.

2.4.2. Fluorescence measurements

We used a Varian Cary Eclipse spectrofluorimeter to measure the LPF of WEOM from the soil and OM from the speleothem samples, analyzing emission spectra at excitation wavelengths of 250 and 330 nm. The fluorescence bands we found when performing preliminary Excitation Emission Matrix analyses were the same as the characteristic wavelengths of the main OM fluorescence bands previously reported for environmental samples (Coble, 1996; Hudson et al., 2007; Senesi et al., 1991). We measured fluorescence emissions between 250 and 550 nm, using a 5-nm slit for excitation and emission wavelengths. Blanks were made using HCl for the speleothem samples and UHQ water for the soil samples. In order to avoid experimental bias, the same method was used for all the samples (soil and speleothem extracts).

We took SPF measurements by focusing a YAG pulsed laser (266 nm) on the sample (spot size around 20 µm) and using the 812-nm Near Infra-Red (NIR) diode generating the YAG fluorescence to measure the sample's NIR reflectance (NIRR). We measured fluorescence and reflectance emissions behind a low-pass filter (Jobin Yvon MicroHr) monochromator fitted with a 300-g/mm diffraction grating centered at 600 nm (range 300 to 900 nm). The detector was a thermoelectric-cooled, back-illuminated CCD (0.25-mm slit, ~1 nm spectral resolution—Jobin Yvon Symphony). The spectrum for each pixel was acquired using a 100 ms acquisition time and corrected

Table 1
Characteristics of the soils sampled in the Bauges and Vercors Massifs.

Sample	Soil type	Vegetation cover	Massif	Latitude	Longitude	Altitude (m a.s.l.)	Org. C (g/kg)	pH H ₂ O	C/N	TOC _{WEOM} (mg/l)
Bau1	Podzol	Heath	Bauges	N45° 38' 56.1"	E005° 59' 29.6"	1306	328	4.2	19.9	95.1
Bau2	Cambisol	Grassland	Bauges	N45° 38' 34.0"	E005° 59' 10.5"	1307	89	5.8	19.1	85.2
Bau3	Follic Leptosol	Alpine grassland	Bauges	N45° 37' 45.1"	E 006° 02' 42.1"	1701	333	5.1	19.5	93.7
Bau4	Eutric Cambisol	Pastured grassland	Bauges	N45° 40' 20.7"	E005° 58' 30.2"	1486	108	6.6	10.1	174.1
Cou1	Cambisol	Mixed forest	Vercors	N45° 07' 43.5"	E005° 26' 09.8"	1300	55	5.9	14.3	135.7

following the standard procedure. We moved the sample in two dimensions in order to obtain SPF images. When line acquisition is continuous, pixel size is determined by the X-axis translation speed and the rate of spectrum acquisition. The image is obtained by stacking lines along the Y-axis. SPF measurement was performed along TAM-x sample, with a $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ resolution.

2.4.3. Data processing

Fluorescence spectra are simulated by the linear combination of:

- 2 to 3 lognormal functions, needed to simulate Raman and Rayleigh emissions (first and second order, when present),
- 3 to 4 lognormal functions, used to simulate OM fluorescence (Tissier et al., 2013).

We performed simulations by using a least squares method under constraints (on the centers and shapes of the functions). We had to simulate the Raman and Rayleigh bands in order to refine the OM fluorescence simulation. The resulting total intensities are the sum of the areas of the OM log-normal curves at 250 and 330 nm, minus the total intensity for the relevant blank sample. We applied the same method to all the fluorescence data from the LPF and SPF analyses.

For LPF analyses, fluorescence intensity results are given in standard quinine-sulfate units ($1\ \text{QSU} = 1\ \text{ppb}\ \text{QS}$ in $0.1\ \text{N}\ \text{H}_2\text{SO}_4$). We used the equation devised by Gauthier et al. (1986) to correct data for the inner filter effect.

Fluorescence efficiency corresponds to the ratio of the maximum of fluorescence intensity divided by the absorbance at the same wavelength (Zsolnay, 2003).

3. Results and discussion

3.1. Relationship between environmental TOC and fluorescence

Fig. 2 shows specific fluorescence data for the studied soils, expressed in terms of the linear relationship between WEOM LPF intensity and TOC (abbreviated to LPF/TOC). Each soil extract was diluted 6 times at different dilution factors to obtain the relation between

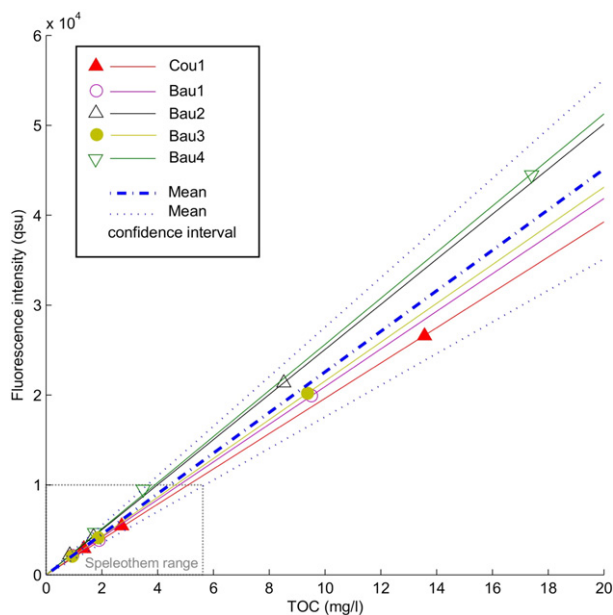


Fig. 2. Environmental relationship between water-extracted organic matter fluorescence intensity (QSU) and TOC (mg/l) for the soil samples. Each point corresponds to a different dilution of the soil sample extract. The mean relationship and confidence interval were obtained using the Monte Carlo resampling method.

fluorescence intensity and TOC. Only the three lowest concentrated points were kept in the figure as speleothems have lower organic carbon concentrations. The mean slope and the confidence interval were built applying a Monte Carlo resampling method to the whole soil data set, taking into account fluorescence and TOC measurement uncertainties, and soil variability. All the Y intercepts are very close to 0, indicating that the non-chromophoric OM contents of these WEOM samples were very low. Specific fluorescence intensities were slightly higher for the grassland soils than for the forest soils, and slightly higher for the pastureland soils than for the forest soils. As expected, the acidic conditions, sand content, and leaching found in Podzol led to a difference between the fluorescence efficiency of sample Bau1 (Fig. 3) and the fluorescence efficiencies of the other soil samples, which are statistically similar (ANOVA p-value of 0.72).

This means that OM sourcing from those soils cannot be clearly differentiated using fluorescence which, from an environmental point of view, makes sense regarding the natural mixing occurring from soils to karst speleothems.

In fact, it is generally considered that the filtering effect of limestone and the mixing of waters during transfer blend together the different types of WEOM produced by the soils overlying a karst (McGarry and Baker, 2000; Shen et al., 2015). Hence, in order to produce a reliable LPF/TOC relation, we used the single mean slope and confidence interval.

3.2. Organic carbon concentration in stalagmites

We used the fluorescence of OM extracted by acid digestion of the three stalagmites to estimate carbon concentrations from the mean LPF/TOC relationship (Fig. 2). Organic carbon concentrations were estimated by reporting the fluorescence intensities measured by LPF on speleothem samples on the mean LPF/TOC slope of soils samples. Uncertainties of the estimations were calculated using the confidence interval built with the Monte Carlo method. Thus, in Table 2, vertical variations (in a column) in estimated organic carbon concentrations correspond to variations within and between the samples. Horizontal variations (along each line) represent, for each sample, the influence of the soil variability.

Organic carbon concentrations obtained ranged from 0.27 to 3.03 mg C/g calcite (Table 2). This is a similar magnitude to the few TOC estimations for stalagmites reported in the literature and suggests that our procedure, based on 5 mg samples, provides a similar degree of accuracy to the procedures using 20-g, 200-mg, and 20-mg samples described by Ramseyer et al. (1997), Van Beynen et al. (2001), and

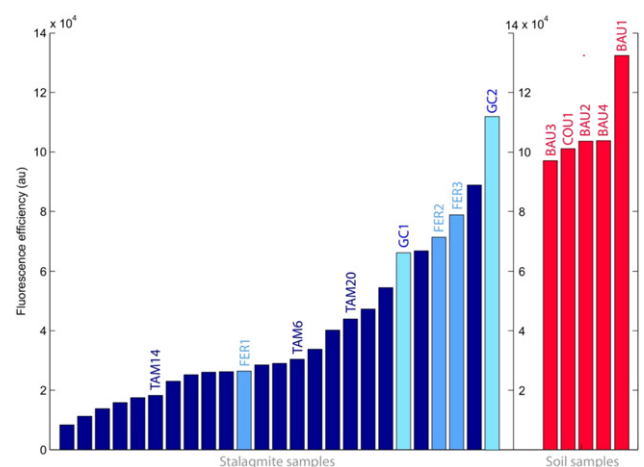


Fig. 3. Fluorescence efficiencies (au) for the soil (red bars) and stalagmite samples (blue bars), including the fluorescence efficiencies for the TAM samples, measured in 2-mm steps.

Table 2

Organic carbon concentrations (mg C/g calcite) in the stalagmite samples estimated using mean soil specific fluorescence and showing soil linear relationship and extraction method uncertainties.

Estimated concentrations (mg C/g calcite) and uncertainties				
Sample	Lower	Mean	Higher	CV% (mean value)
GC1	1.87	2.37	3.16	17.3
GC2	2.39	3.03	4.04	
FER1	1.03	1.31	1.75	35
FER2	2.09	2.65	3.54	
FER3	2.08	2.64	3.51	
TAM6	0.27	0.34	0.45	90.1
TAM14	1.03	1.31	1.74	
TAM20	0.21	0.27	0.35	

Blyth et al. (2013), Li et al. (2014), Hartland et al. (2014), respectively. The procedure used by Blyth et al. (2013) gave similar results for **TAM-x** sample and lower values for **GC-x** due to the flocculation during acid digestion (see supplementary information).

Organic carbon concentration estimates within each sample varied over quite a large range for the **FER.x** and **TAM.x** stalagmite samples (35 and 90% of variation respectively) but were much more uniform for the **GC.x** samples (17%, vertical variations). These results show that the OM concentrations of stalagmites can vary considerably; however, some of this apparent variation may be the result of changes in the type of OM present distorting TOC estimations. For example, FER1 presents a slightly different emission spectra (see supplementary information, Fig. B) and a lower fluorescence efficiency than the other samples (Fig. 3), probably because of the influence of the dairy farm on FER2 and FER3. This change is more probable in the case of **GC-x** samples where emission spectra present a bathochromic shift (red shift) between GC1 and GC2. In addition, visual analyses and changes in SPF showed that the detrital content of the **TAM.x** samples varied along the stalagmite. The fluorescence efficiency of the **TAM.x** samples also varied, with lower values for TAM14 (U2) than for TAM6 and TAM20 (U3 and U1, respectively). The decrease in fluorescence efficiency may be the result of increased absorbance due to the presence of charcoal and clay inclusions, which seems to be confirmed by fluorescence emission spectra (see supplementary information).

Growth rate may also affect the amount of OM entrapped in speleothems, with lower growth rates allowing the adsorption of larger amounts of OM (Avena and Koopal, 1999). In addition, the porosity of calcite, due to its effect on the specific surface at the calcite/water interface, will also influence OM adsorption rates, with higher porosity enabling a higher OM adsorption rate (Chalmin et al., 2013). Both these mechanisms could increase a stalagmite's TOC content without any “environmental” increase in the TOC concentration of the water feeding the stalagmite.

Hence, any comparison between stalagmites must take into account growth rates and calcite fabrics, as well as the TOC concentrations in the waters feeding the stalagmites. The variations inter and intra stalagmite should be considered with caution because a wide range of soil types have been used and could lead to significant variations of organic carbon estimates and because estimations are based on mass concentration (mg/g) rather than carbon fluxes (mg/yr).

3.3. **TAM.x** carbon flux estimates

In order to analyze changes in carbon flux and to avoid the previously described constraints, **TAM.x** stalagmite was used. In fact, we chose this stalagmite for this procedure because of its regular growth, its globally constant organic matter quality even if few layers combined higher porosity and detrital inclusions. We combined the above-described procedure with high-resolution SPF analyses. We carried out LPF analyses at a 2-mm sampling step along the three stratigraphic units spanning the last four centuries to estimate the organic carbon concentration in

the same way than previously. The 20 organic carbon concentration estimates obtained varied between 0.24 and 1.34 mg C/g calcite (Fig. 4). These values are consistent with the characteristics of the stalagmite's different stratigraphic units.

Samples TAM20 and TAM19, taken from the most recent stratigraphic unit (U1), are characterized by low estimated carbon concentrations (less than 1 mg C/g calcite). Samples TAM13 to TAM18, taken from U2 had much higher estimated carbon concentrations than TAM20 and TAM19, which is consistent with the increased porosity of the calcite in this unit and its numerous charcoal and clay inclusions. Estimated carbon concentrations of samples TAM1 to TAM12 (U1) were always below 1 mg C/g calcite.

SPF intensity was measured among the stalagmite with a 100 $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ resolution. To compare SPF intensity with TOC estimations, the values were averaged to obtain a single intensity signal among stalagmite. This intensity signal was re-sampled at the same step than TOC estimations to allow comparison. Although estimated TOC concentrations were broadly related to the different stratigraphic units, and laboratory experiments have reported a relationship between SPF intensity and humic acid concentration (Chalmin et al., 2013), we did not find a match between TOC concentration and SPF intensity. A test of this relationship, performed by re-sampling the SPF intensity signal on the basis of the micro-sampling intervals used for the acid digestion and LPF stages, did not show any statistical correlation between TOC concentration and SPF intensity ($R^2 = 0.23$, $n = 20$, $p < 0.05$). A number of factors, such as growth rate and type of OM may have affected the quantities determined from the fluorescence signal. Stalagmite **TAM.x** showed a reasonably

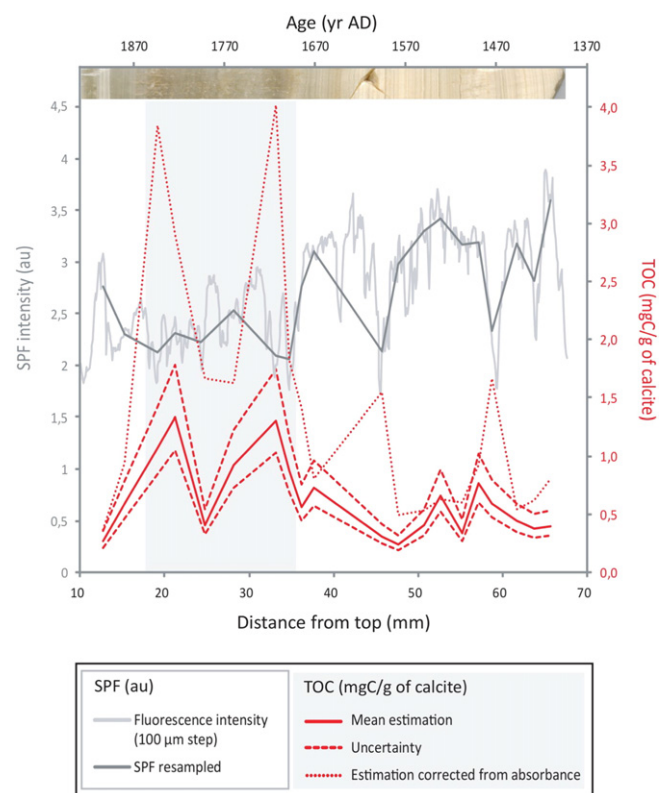


Fig. 4. Relationship between TOC estimations (mg C/g calcite) and SPF intensity over time for the TAM stalagmite 2-mm-step samples. In addition to mean TOC estimations (red line) and uncertainties (red dashed lines), we also plotted TOC estimations corrected from absorbance (red dotted lines). We resampled the fluorescence intensity (dark gray line) of the SPF measurement (light gray line) in order to compare it with TOC estimations. Stratigraphic zone U2 (porous calcite with inclusions) is shown by a gray background.

constant growth rate, but it is possible that TOC estimations were affected by changes in the type of OM along the stalagmite. Although other OM tracing methods have not revealed any changes in the source feeding the stalagmite (Perrette et al., submitted), we found variations in the fluorescence efficiencies of the TAM.x samples (ANOVA p-value close to 0). These variations were confirmed by sample dilution measurements (Fig. 5).

In Fig. 5, linear regression slopes for stalagmite samples are mostly shallower than the slopes calculated for soils. These lower slopes can be explained by an increase of solution's absorbance coupled or not with an increase of the fluorescence intensity. Even if acid digestion was optimized to avoid modification of organic matter and flocculation in particular, acidic conditions or desorption with calcite crystals could have caused rearrangement of molecular structure leading to lower fluorescence efficiency. We found a relationship between the linear regression slopes and the stratigraphic unit, with shallower regression slopes for the U2 samples, which consisted of porous calcite with charcoal and clay inclusions. As a result, the TOC content of the samples from this unit may have been underestimated. In order to take into account these possible underestimations and thereby improve our TOC concentration estimates, we used the mean slope of the soil fluorescence efficiency to correct the fluorescence of the stalagmite samples as soil sample slopes are statistically similar. Thus, new values of fluorescence intensity were calculated using the mean linear regression between LPF intensity and absorbance of soils. Then, the corrected organic carbon concentrations were estimated in the same way than previously, using these new fluorescence intensities. TOC estimations for U1 and U3 were similar to those obtained without correction, with the exception of the estimations for samples TAM4 and TAM10, which were taken from areas of porous calcite, similar to U2 (Table 3). The corrected TOC estimations for the U2 samples were much higher than the original estimations. Although the relationship between corrected TOC and SPF intensity is stronger, there was still no statistical correlation between these two parameters ($R^2 = 0.52$, $n = 20$, $p < 0.05$). This result implies that the absence of a relation between TOC and SPF intensity is not due solely to factors affecting TOC estimations and may also be the result of variations in calcite optical density.

3.4. Effect of calcite optical density

For the samples analyzed in the present study, SPF was not statistically correlated with either initial TOC estimations ($R^2 = 0.23$, $n = 20$, $p < 0.05$) or with TOC estimations corrected for absorbance

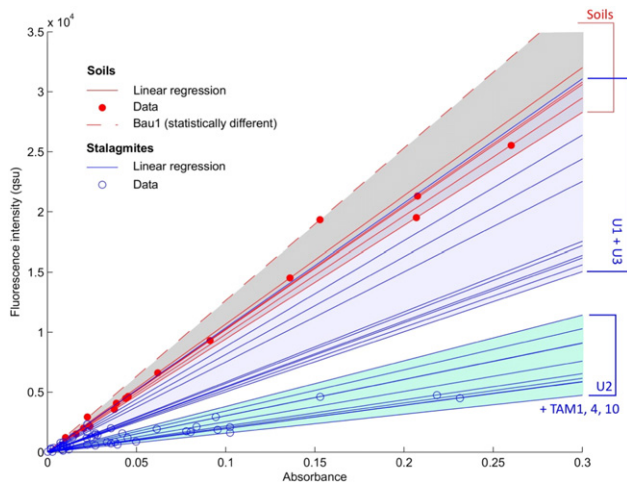


Fig. 5. Relationship between fluorescence intensity (QU) and absorbance for the soil (red lines) and TAM samples (blue lines). Bau1, which is statistically different from the other soil samples, is shown by a red dotted line.

Table 3

Calcite properties (0 = null to +++ = high) and organic carbon concentrations (mg C/g calcite), predicted using the nonlinear model, of the 20 samples taken from the TAM stalagmite.

Sample	Mass (g)	Porosity	Inclusions	C predicted (mg C/g _{calcite})
1	6.4	+	+	0.30
2	6.1	+	+	0.36
3	7	+	+	0.39
4	6.6	+++	++	0.32
5	5.4	++	++	0.35
6	6.2	+	+	0.57
7	6.5	+	+	0.45
8	6.5	+	+	0.39
9	6.7	+	++	0.41
10	6.8	++	++	0.47
11	6.5	+	+	0.68
12	6.6	++	+	0.71
13	6	+++	+++	0.92
14	5.9	+++	+++	0.97
15	5.7	+++	+++	0.82
16	6.1	+++	+++	1.15
17	6.1	+++	+++	1.31
18	6.4	+++	+++	1.25
19	3.2	0	0	1.82
20	6.5	0	0	1.11

($R^2 = 0.52$, $n = 20$, $p < 0.05$). Several studies have found that the optical density of the calcite lattice, which can be measured using UV reflectance (Perrette et al., 2000, 2005), affects measurements, and it is generally agreed that increases in calcite porosity modify the fluorescence signal (Genty et al., 1997; McGarry and Baker, 2000; Perrette et al., 2000). Hence, the effect of calcite optical density cannot be modeled using a linear relationship. Consequently, we drew up the following non-linear model to estimate the relationship between TOC and SPF:

$$\hat{C} = a + bF * dNIRR^c.$$

In this model, carbon concentration \hat{C} is predicted by two explained variables, SPF fluorescence intensity (F) and Near Infra-Red Reflectance ($NIRR$). Calcite matrix effects are expressed in terms of the component, which provides a measure of matrix porosity. Samples TAM4, TAM5, TAM19, and TAM20 had very different calcite structures compared to the other samples (level of porosity and detrital content different than the whole sample), so we could not use the same parameters to model the effects on the fluorescence measurements of these samples' calcite matrices. Consequently, these samples were considered as outliers.

Although the TAM16 sample did not show any unusual depositional characteristics, the fluorescence efficiency for this sample did not match the efficiency predicted by the model. It is unlikely that this is due to a change in the type of OM because the fluorescence spectrum for TAM16 was similar to the spectra for the other samples. Consequently, we suspected that this result was due to experimental error and we removed TAM16 from the final model.

Our final model can be used to predict TOC concentrations for each point in an SPF image ($R^2 = 0.81$, $n = 15$, $p < 0.05$; Fig. 6). Even soil type constraint could reduce uncertainties on organic carbon estimations, this model could thereby allow the use of fluorescence data to carry out high-resolution assessments of variations in organic carbon exportation. In further studies, the calibration of the LPF/SPF relation with the DOC of speleothem's dripwater, if available, should improve the organic carbon estimation.

3.5. Carbon exportation

Our nonlinear model allowed us to transform a map of fluorescence intensities into a map of predicted TOC concentrations and a map of

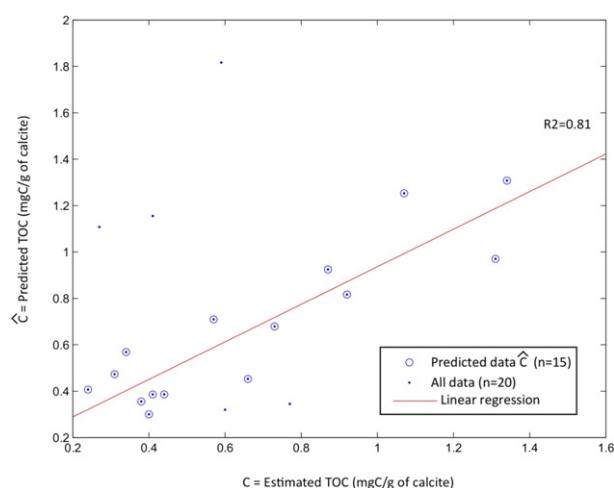


Fig. 6. Relationship ($R^2 = 0.81$) between estimated TOC and predicted TOC (mg C/g calcite) showing the nonlinear regression (equation parameters: $a = 1.37 \times 10^{-3}$; $b = 1.16 \times 10^{-5}$; $c = -3.22$; $d = 0.12$).

associated uncertainties (Fig. 7). Uncertainties were calculated assuming a constant error ($\hat{y} = f + a\epsilon$) during the optimization of the model and applied on the data during the prediction. It corresponds to a standard 0.05% confidence. Uncertainties for the organic carbon estimations were highest for the samples removed from the model and for the U2 samples, where uncertainty variations are patchy. This is consistent with the presence of charcoal inclusions in the crystalline structure of the U2 samples, which locally distorted the SPF measurements. Uncertainties in U3 are mostly small and the model for this zone can be considered accurate.

Carbon exportation on the Coulmes Plateau was lower before 1700 AD than it was in more recent periods. Historical records indicate

that the pre-1700 AD environment was characterized by steady state soils with extended forest catchments, and slash and burn agriculture as the main human activity. This is consistent with the low carbon exportation values and the presence of small quantities of charcoal inclusions. Calcite deposited between 1700 and 1892 AD shows higher levels of carbon exportation and higher charcoal contents. These increases can be attributed to a change in land-use on the plateau, mostly due to the development of charcoal burning as a major economic activity (Hanus, 2000). Forest clearance would have led to increased soil erosion, and therefore higher carbon exportation, and charcoal production would have resulted in large amounts of charcoal being available for incorporation into soils and sediments. Higher carbon exportation and charcoal inclusion rates continued after 1892 and did not start decreasing until around 1910. Evidence for this decrease is less clear due to the high level of uncertainty for the predicted carbon values in U1, but such a decrease would be coherent with the decline in the charcoal industry (Hanus, 2000). Thus, our results suggest that in this case carbon exportation can be used as a reliable proxy for soil erosion even if other causes could be involved to explain increases in carbon exportation (climate, pedologic processes, vegetation changes).

4. Conclusion

The new fluorescence-based method we describe in this paper allows organic carbon concentrations in stalagmite samples to be estimated using only 5 mg of calcite. Although estimates can be improved by taking into account changes in OM (e.g., type, modifications during transport), the results we obtained using the LPF-TOC relationship for soils are in good agreement with those reported in the literature and showed clear differences between the three speleothems studied.

We found that organic carbon estimations can be correlated with SPF measurements by using a nonlinear model based on SPF intensity and incorporating NIRR in order to take into account the effect of calcite optical density. We used this new approach to draw up a map of organic carbon concentrations in a stalagmite sample. The resulting predictions of carbon exportation rates were consistent with changes in soil erosion and forest cover above the cave due to changes in land-use. Our method provides a new way of interpreting fluorescence data that could facilitate the interpretation of other organic or inorganic proxies during paleoenvironmental studies of speleothems.

Acknowledgment

The authors would like to thank the two anonymous reviewers for their constructive remarks which contribute to improve this manuscript. This work thanks the GeMO platform (EDYTEM laboratory) and the LCME laboratory (especially Silvia Silvero-Vega).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2015.07.012>.

References

- Avena, M.J., Koopal, L.K., 1999. Kinetics of humic acid adsorption at solid-water interfaces. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2739–2744.
- Baker, A., Genty, D., 1999. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *J. Hydrol.* 217 (1–2), 19–34.
- Baker, A., Barnes, W., Smart, P.L., 1996. Speleothem luminescence intensity and spectral characteristics: signal calibration and a record of palaeovegetation change. *Chem. Geol.* 130, 65–76.
- Baker, A., Barnes, W., Smart, P., 1997. Variations in the discharge and organic matter content of stalagmite drip waters in Lower cave, Bristol. *Hydrol. Process.* 11, 1541–1555.
- Baker, A., Genty, D., Smart, P.L., 1998. High-resolution records of soil humification and paleoclimate change from variations in speleothem luminescence excitation and emission wavelengths. *Geology* 26, 903–906.
- Blyth, A.J., Schouten, S., 2013. Calibrating the glycerol dialkyl glycerol tetraether temperature signal in speleothems. *Geochim. Cosmochim. Acta* 109, 312–328.

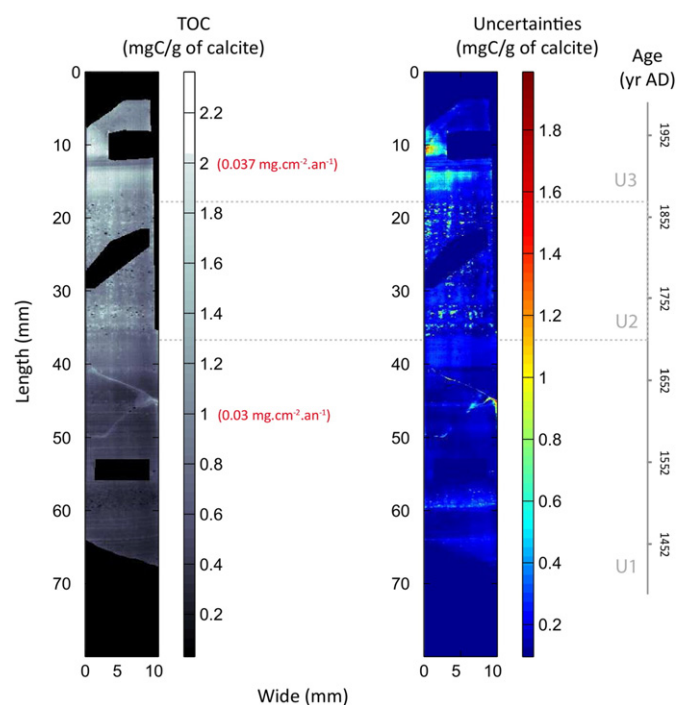


Fig. 7. Map of predicted TOC (mg C/g calcite) with the nonlinear model (left) and map of uncertainties (mg C/g calcite) associated with the model prediction (right). Black and dark blue areas on the TOC and uncertainty maps, respectively, indicate areas of the stalagmite or areas outside the stalagmite that were not included in the model and which were therefore removed from the results.

- Blyth, A.J., Farrimond, P., Jones, M., 2006. An optimised method for the extraction and analysis of lipid biomarkers from stalagmites. *Org. Geochem.* 37, 882–890.
- Blyth, A.J., Baker, A., Thomas, L.E., Van Calsteren, P., 2011. A 2000-year lipid biomarker record preserved in a stalagmite from north-west Scotland. *J. Quaternary Sci.* 26. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 326–334.
- Blyth, A.J., Shutova, Y., Smith, C., 2013. $\delta^{13}\text{C}$ analysis of bulk organic matter in speleothems using liquid chromatography–isotope ratio mass spectrometry. *Org. Geochem.* 55, 22–25.
- Blyth, A.J., Jex, C.N., Baker, A., Khan, S.J., Schouten, S., 2014. Contrasting distributions of glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) in speleothems and associated soils. *Org. Geochem.* 69, 1–10.
- Bosle, J., Mischel, S., Schulze, A.-L., Scholz, D., Hoffmann, T., 2014. Quantification of low molecular weight fatty acids in cave drip water and speleothems using HPLC-ESI-IT/MS – development and validation of a selective method. *Anal. Bioanal. Chem.* Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–11.
- Chalmin, E., Perrette, Y., Fanget, B., Susini, J., 2013. Investigation of organic matter entrapped in synthetic carbonates: a multimethod approach. *Microsc. Microanal.* 19, 132–144.
- Charlier, J.-B., Bertrand, C., Binet, S., Mudry, J., Bouillier, N., 2010. Use of continuous measurements of dissolved organic matter fluorescence in groundwater to characterize fast infiltration through an unstable fractured hillslope (Valabres rockfall, French Alps). *Hydrogeol. J.* 18, 1963–1969.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Le Quéré, C., Myneni, R.B., Piao, S., Thornton, P., 2013. Carbon and Other Biogeochemical Cycles. In: Stocker, T.F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P.M. (Eds.), *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* 51 (4), 325–346.
- Crowell, B.E., White, W.B., 2012. Measurement of luminescent banding in speleothems: some techniques and limitations. *Int. J. Speleol.* 41, 51–58.
- Ferreira, J., Nascimento, O.R., Martin-Neto, L., 2001. Hydrophobic interactions between spin-label 5-SASL and humic acid as revealed by ESR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 35, 761–765.
- Gauthier, T.D., Shane, E.C., Guerin, W.F., Seitz, W.R., Grant, C.L., 1986. Fluorescence quenching method for determining equilibrium constants for polycyclic aromatic hydrocarbons binding to dissolved humic materials. *Environ. Sci. Technol.* 20, 1162–1166.
- Genty, D., Baker, A., Barnes, W., 1997. Comparaison entre les lamines luminescentes et les lamines visibles annuelles de stalagmites Comptes Rendus de l'Académie des Sciences – Series IIA. *Earth Planet. Sci.* 325, 193–200.
- Giguet-Covex, C., Arnaud, F., Poulenard, J., Disnar, J.-R., Delhon, C., Francus, P., David, F., Enters, D., Rey, P.-J., Delannoy, J.-J., 2011. Changes in erosion patterns during the Holocene in a currently treeless subalpine catchment inferred from lake sediment geochemistry (Lake Anterne, 2063 m a.s.l., NW French Alps): the role of climate and human activities. *The Holocene* 21, 651–665.
- Hanus, P., 2000. Je suis né charbonnier dans le Vercors: Petite histoire des hommes dans la forêt. Parc naturel régional du Vercors (208 pp.).
- Hartland, A., Fairchild, I.J., Müller, W., Dominguez-Villar, D., 2014. Preservation of NOM-metal complexes in a modern hyperalkaline stalagmite: implications for speleothem trace element geochemistry. *Geochim. Cosmochim. Acta* 128, 29–43.
- Hassouna, M., Massiani, C., Dudal, Y., Pech, N., Theraulaz, F., 2010. Changes in water extractable organic matter (WEOM) in a calcareous soil under field conditions with time and soil depth. *Geoderma* 155 (1–2), 75–85.
- Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D., 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters: a review. *River Res. Appl.* 23, 631–649.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil Sci.* 165 (4), 277–304.
- Li, X., Hu, C., Huang, J., Xie, S., Baker, A., 2014. A 9000-year carbon isotopic record of acid-soluble organic matter in a stalagmite from Heshang Cave, central China: paleoclimate implications. *Chem. Geol.* 388, 71–77.
- Martin-Neto, L., Traghetta, D.G., Vaz, C.M.P., Crestana, S., Sposito, G., 2001. On the interaction of mechanisms of atrazine and hydroxyatrazine with humic substances. *J. Environ. Qual.* 30, 520–525.
- McGarry, S.F., Baker, A., 2000. Organic acid fluorescence: applications to speleothem palaeoenvironmental reconstruction. *Quat. Sci. Rev.* 19, 1087–1101.
- Nanny, M.A., Kontas, C., 2002. Fluorescent spectroscopic analysis of non-covalent interactions between dissolved humic and fulvic acids and 6-propionyl-2-dimethylaminonaphthalene. Preprints of Extended Abstracts Presented at the 223rd American Chemical Society National Meeting Vol. 42. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 528–531.
- Orland, I.J., Burstyn, Y., Bar-Matthews, M., Kozdon, R., Ayalon, A., Matthews, A., Valley, J.W., 2014. Seasonal climate signals (1990–2008) in a modern Soreq Cave stalagmite as revealed by high-resolution geochemical analysis. *Chem. Geol.* 363 (10), 322–333.
- Perrette, Y., Delannoy, J.-J., Bolvin, H., Cordonnier, M., Destombes, J.-L., Zhilinskaya, E.A., Aboukais, A., 2000. Comparative study of a stalagmite sample by stratigraphy, laser induced fluorescence spectroscopy, EPR spectrometry and reflectance imaging. *Chem. Geol.* 162, 221–243.
- Perrette, Y., Delannoy, J.-J., Desmet, M., Lignier, V., Destombes, J.-L., 2005. Speleothem organic matter content imaging. The use of a Fluorescence Index to characterise the maximum emission wavelength. *Chem. Geol.* 214, 193–208.
- Perrette, Y., Poulenard, J., Saber, A.-L., Fanget, B., Guittouneau, S., Ghaleb, B., Garaudee, S., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in stalagmites: occurrence and use for analyzing past environments. *Chem. Geol.* 251, 67–76.
- Perrette, Y., Poulenard, J., Protière, M., Fanget, B., Lombard, C., Miège, C., Quiers, M., Nafferchoux, E., Pépin-Donat, B., 2015d. Determining soil sources by organic matter EPR fingerprints in two modern speleothems. *Org. Geochem.* (submitted).
- Ramseyer, K., Miano, T.M., D'orazio, V., Wildberger, A., Wagner, T., Geister, J., 1997. Nature and origin of organic matter in carbonates from speleothems, marine cements and coral skeletons. *Org. Geochem.* 26, 361–378.
- Senesi, N., Miano, T.M., Provenzano, M.R., Brunetti, G., 1991. Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Sci.* 152 (4), 259–271.
- Shen, Y., Chapelle, F.H., Strom, E.W., Benner, R., 2015. Origins and bioavailability of dissolved organic matter in groundwater. *Biogeochemistry* 122, 61–78.
- Smaier, S.M., White, W.B., 2013. The luminescent humic substances in speleothems. *Appl. Geochem.* 36, 132–139.
- Sutton, R., Sposito, G., 2005. Molecular structure in soil humic substances: the new view. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9009–9015.
- Tissier, G., Perrette, Y., Dzikowski, M., Poulenard, J., Hobléa, F., Malet, E., Fanget, B., 2013. Seasonal changes of organic matter quality and quantity at the outlet of a forested karst system (La Roche Saint Alban, French Alps). *J. Hydrol.* 482, 139–148.
- Van Beynen, P., Bourbonniere, R., Ford, D., Schwarcz, H., 2001. Causes of colour and fluorescence in speleothems. *Chem. Geol.* 175, 319–341.
- van Breemen, N., Buurman, P., 2002. Podzolisation, Chapt. 11, *Soil Formation*. Springer, Netherlands, pp. 257–284.
- Webb, M., Dredge, J., Barker, P.A., Müller, W., Jex, C., Desmarchelier, J., Hellstrom, J., Wynn, P.M., 2014. Quaternary climatic instability in south-east Australia from a multi-proxy speleothem record. *J. Quat. Sci.* 29, 589–596.
- White, W.B., Brennan, E.S., 1989. Luminescence of speleothems due to fulvic acid and other activators. Proceedings of the 10th International Congress of Speleology, Budapest vol. 1, 13–20, pp. 212–214.
- World Reference Base for soil resources (WRB), 2006. A Framework for International Classification, Correlation and Communication. FAO, Roma, p. 10.
- Wynn, P.M., Brocks, J.J., 2014. A framework for the extraction and interpretation of organic molecules in speleothem carbonate. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 28, 845–854.
- Yang, H., Ding, W., Zhang, C.L., Wu, X., Ma, X., He, G., Huang, J., Xie, S., 2011. Occurrence of tetraether lipids in stalagmites: implications for sources and GDGT-based proxies. *Org. Geochem.* 42, 108–115.
- Zsolnay, A., 2003. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113 (3–4), 187–209.

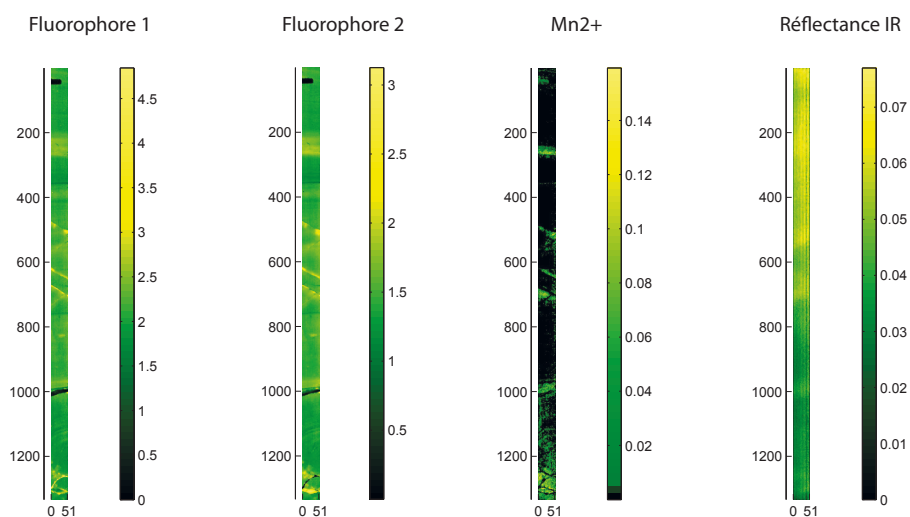
Annexe 2 - Tableau des paramètres de simulation des spectres

Tableau des paramètres utilisés pour la simulation des spectres des différents échantillons dans cette étude.

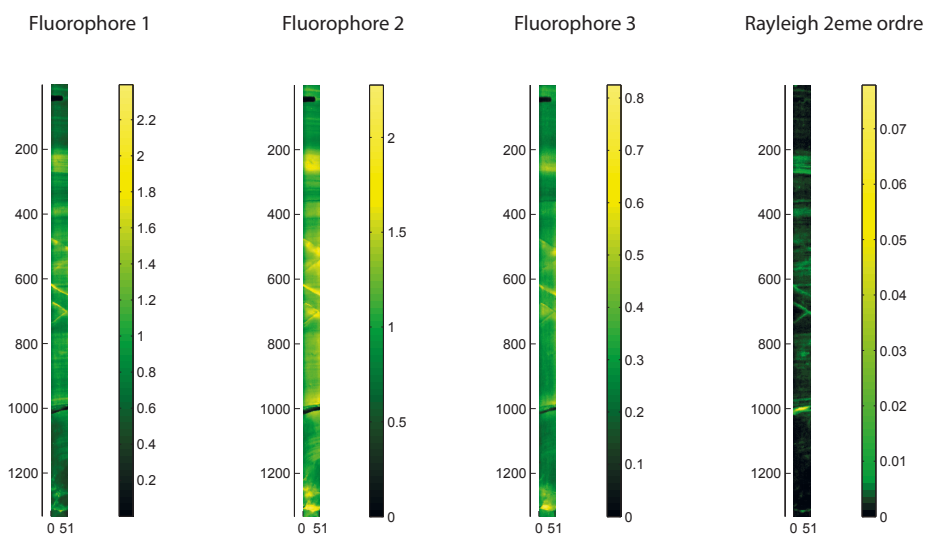
Echantillon GC09B - excitation 266 nm					
<i>Surfaces</i>	7	5	0,1		
<i>Centres</i>	450	540	812		
<i>Lim. Centres</i>	+/-20	+/-20	+/-2		
<i>Largeurs</i>	0,08	0,15	0,003		
<i>Lim. Largeurs</i>	-0,05/+0,05	-0,02/+0,04	-0,001/+0,002		
Echantillon GC13A - excitation 266 nm					
<i>Surfaces</i>	8	7	1	0,1	
<i>Centres</i>	410	475	640	812	
<i>Lim. Centres</i>	+/-20	+/-20	+/-20	+/-2	
<i>Largeurs</i>	0,1	0,1	0,05	0,003	
<i>Lim. Largeurs</i>	-0,08/+0,09	-0,08/+0,09	-0,02/+0,04	-0,001/+0,002	
Echantillon GC13A - excitation 325 nm					
<i>Surfaces</i>	5	8	5	4	0,1
<i>Centres</i>	320	400	470	560	650
<i>Lim. Centres</i>	+/-5	+/-10	+/-20	+/-20	+/-2
<i>Largeurs</i>	0,005	0,05	0,05	0,1	0,003
<i>Lim. Largeurs</i>	-0,004/+0,008	-0,008/+0,03	-0,04/+0,05	-0,08/+0,1	-0,001/+0,002
Echantillon GC13B - excitation 266 nm					
<i>Surfaces</i>	8	7,5	1	0,1	
<i>Centres</i>	400	475	640	812	
<i>Lim. Centres</i>	+/-20	+/-20	+/-20	+/-2	
<i>Largeurs</i>	0,1	0,1	0,05	0,003	
<i>Lim. Largeurs</i>	-0,08/+0,09	-0,08/+0,09	-0,02/+0,04	-0,001/+0,002	
Echantillon GC13B - excitation 325 nm					
<i>Surfaces</i>	5	8	5	6	0,1
<i>Centres</i>	320	380	430	510	650
<i>Lim. Centres</i>	+/-5	+/-10	+/-20	+/-20	+/-2
<i>Largeurs</i>	0,008	0,04	0,05	0,1	0,003
<i>Lim. Largeurs</i>	-0,005/+0,04	-0,005/+0,03	-0,04/+0,05	-0,08/+0,08	-0,001/+0,002

Annexe 3 - Cartes d'intensités des différents fluorophores simulés pour les échantillons GC-13A et GC-13B

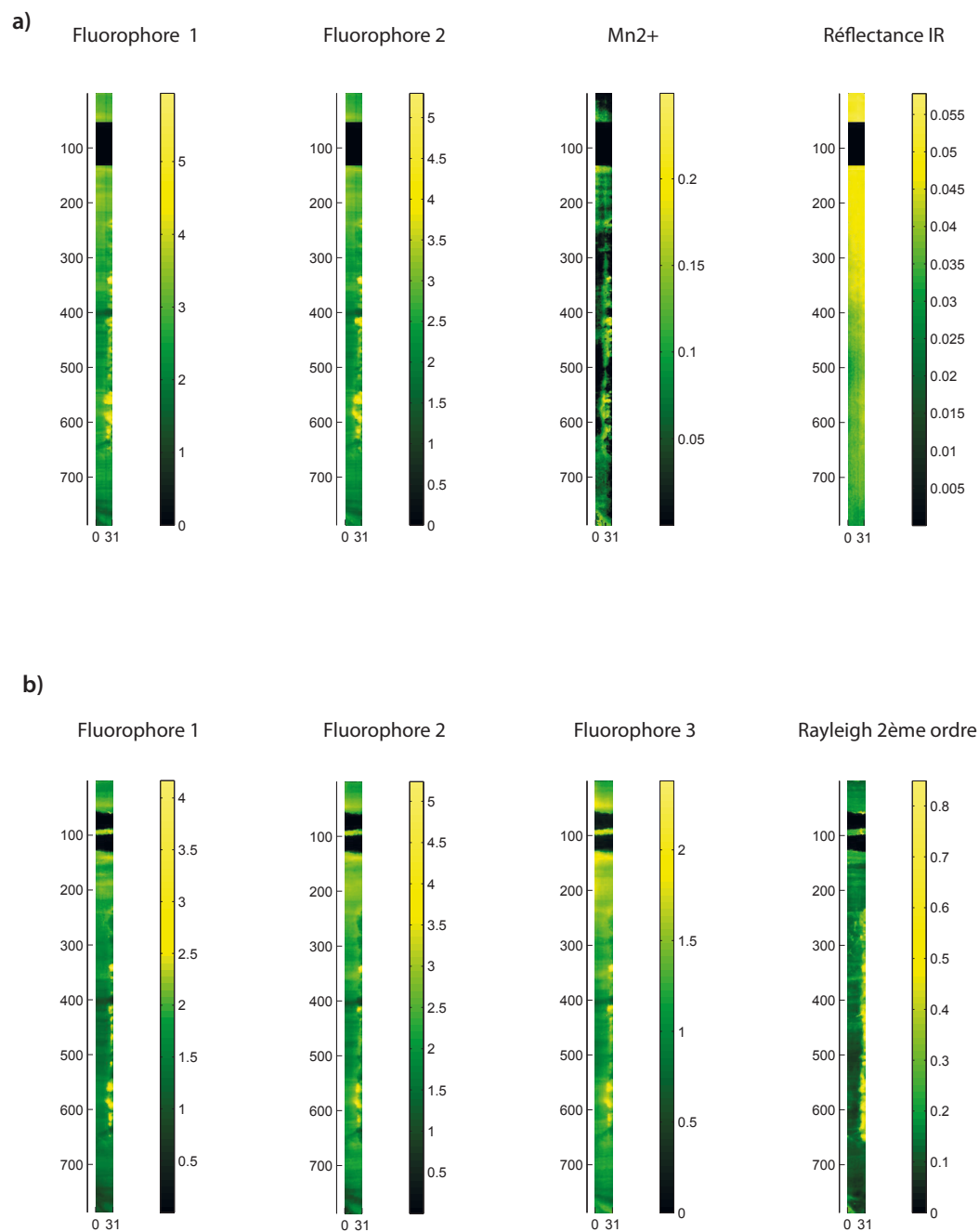
a)



b)



Cartes d'intensité de fluorescence pour chaque fluorophore déterminé à partir de la simulation des spectres de l'échantillon GC-13A à 266 et 325 nm d'excitation.



Cartes d'intensité de fluorescence pour chaque fluorophore déterminé à partir de la simulation des spectres de l'échantillon GC-13B à 266 et 325 nm d'excitation.

Annexe 4 - Code Matlab utilisé pour la simulation des spectres de fluorescence

```
% *****
% Importe les données
% *****

% liste les fichiers de mesure (colonnes) du même échantillon
list=dir('stal_exc_*');

% télécharge les fichiers listés
for i=1:length(list);
load (list(i).name);
end

%longueur onde de mission
emi=load('stal_exc.wl');

% sauvegarde les données brutes téléchargées
save stal_exc_brt.mat

% *****
% Constitue une seule matrice
% *****

% liste les fichiers téléchargés
list1=who('stal_exc_*');
n=51;

% crée une matrice 3D à partir des fichiers listés
for i=1:length(list1(1:n))
    tmp=eval(char(list1(i)));
    stalexc(:, :, i)=tmp;
end

% *****
% Fait la moyenne des spectres par ligne
% *****

for i=1:size(stalexc,1);
    tmp=squeeze(stalexc(i, :, :));
    stalexc_m(i, :)=mean(tmp, 2);
end

%% Fait un spectre moyen de l'échantillon
```

```

% moyenne les spectres sur tout l'échantillon
stalexc_spcm=mean(stalexc_m);

% spectre moyen
plot(stalexc_spcm)

% *****
% Enlève les points mesurés en dehors de l'échantillon
% *****

% visualisation de la zone à supprimer
ee=stalexc_m(:,160:290);
ff=mean(ee,2);
plot(ff)

% supprime les valeurs en dehors de l'échantillon
stalexc_m=stalexc_m(28:end,:);

% *****
% Fait un nouveau spectre moyen de l'échantillon
% *****

% moyenne les spectres sur tout l'échantillon sans les trous (si présents)
mm=[stalexc_m(1:32,:) ; stalexc_m(53:984,:) ; stalexc_m(1015:end,:)];
stalexc_spcm=mean(mm);

% figure
plot(emi,stalexc_spcm)
saveas(gca,['spcmoy_stalexc.pdf'],'pdf')

% *****
% Fit du spectre moyen
% *****

options=optimset('Display','off','MaxIter',10000,'algorithm','active-set');

global xi yi % déclare des variables globales
xi=emi(1,28:end); % xi correspond aux longueurs d'onde avec un pas de 1

% déclare les paramètres de fit

surfaces=[8 7 1 0.1]; % définit les surfaces
centres_n=[410 475 640 812]; % définit les centres
largeurs=[0.1 0.1 0.05 0.003]; % définit les largeurs
n=length(surfaces); % n représente la longueur totale des surfaces
p0=[surfaces;centres_n;largeurs];

% correspond aux limites de modification des largeurs

```

```

larg_lim=[-0.08 -0.08 -0.02 -0.001 ;0.09 0.09 0.04 0.002];
% correspond aux limites de décalage des centres
pinf=zeros(1,n) ; centres_n = [20 20 20 2] ;largeurs + larg_lim(1,:));
% idem mais en supérieur
psup=[inf(1,n) ; centres_n + [20 20 20 2] ;largeurs + larg_lim(2,:));

% fit et figure

FITstalexc_m=[];

    yi = stalexc_spcm(1,28:end);
    Pf=fmincon('dist_ln_a_N',p0,[],[],[],[],pinf,psup,[],options);
    FITstalexc_m(:, :,1)=Pf;
[a,aa]=ln_a_N_fit(xi,Pf);
plot(xi,yi, '.',xi,aa,xi,a,'k-'), %
title(sprintf('stal_exc'),'Interpreter','none');

saveas(gca,['spcmoyfit_stalexc.pdf'],'pdf')

% *****
% Met la matrice 3D en vecteur
% *****

stalexc=stalexc(28:end, :, :);
stalexc_tp=permute(stalexc,[1 3 2]);

% de 3 à 2 dimensions
stalexcv=reshape(stalexc_tp,[],1024);

% *****
% Fit des spectres moyens par ligne
% *****

options = optimset('Display','off','MaxIter',10000,'algorithm','active-set');

global xi yi
xi=emi(1,28:end);

% déclare les paramètres de fit

surfaces=[8 7 1 0.1];
centres_n=[410 475 640 812];
largeurs=[0.1 0.1 0.05 0.003];
n=length(surfaces);
p0=[surfaces;centres_n;largeurs];

larg_lim=[-0.08 -0.08 -0.02 -0.001 ;0.09 0.09 0.04 0.002];
pinf=zeros(1,n) ; centres_n = [20 20 20 2] ;largeurs + larg_lim(1,:));
psup=[inf(1,n) ; centres_n + [20 20 20 2] ;largeurs + larg_lim(2,:));

```



```

%fit

FITstalexc=ones(3,4,67983);

for i=1:size(stalexcv,1);
    yi = stalexcv(i,28:end);
    Pf=fmincon('dist_ln_a_N',p0,[],[],[],[],pinf,psup,[],options);
    FITstalexc(:, :, i)=Pf;
    [a,aa]=ln_a_N_fit(xi,Pf);
    plot(xi,yi,'.',xi,aa,xi,a,'k-'), %
    title(sprintf('Stalexc_%d',i),'Interpreter','none');

    coefcorel=[yi' a'];
    R=corrcoef(coefcorel);
    corstalexc(i)=R(1,2);

end

% coefficient de corrélation en 2D

corstalexcd=reshape(corstalexc,1333,51);
imagesc(corstalexcd)

saveas(gca,['corfit_stalexc.pdf'],'pdf')

% sauvegarde du fit
save fit_stalexc.mat

% *****
% Fit sans trous
% *****

stalexct=stalexc;
stalexct(33:52, :, :)=0;
stalexct(985:1014, :, :)=0;
stalexctp=permute(stalexct,[1 3 2]);

% de 3 à 2 dimensions
stalexctv=reshape(stalexctp,[],1024);

%fit

FITstalexc=[];

for i=1:size(stalexctv,1);
    yi = stalexctv(i,28:end);
    rr=sum(yi);
    if rr == 0;
        FITstalexc(:, :, i)=NaN;
    end
end

```

```

        corstalexc(i)=NaN;
    else
        Pf=fmincon('dist_ln_a_N',p0,[],[],[],[],pinf,psup,[],options);
        FITstalexc(:, :, i)=Pf;
        [a,aa]=ln_a_N_fit(xi,Pf);
        plot(xi,yi, '.',xi,aa,xi,a, 'k-'), %
        title(sprintf('Stalexc_%d',i), 'Interpreter', 'none');

        coefcorel=[yi' a'];
        R=corrcoef(coefcorel);
        corstalexc(i)=R(1,2);

    end
end

% *****
% Fit en traitement parallèle (pour les très grosses matrices)
% *****

tmp=stalexc;

parpool(8);
ntot=size(tmp,1);
resultats=zeros(size(p0,1).*size(p0,2) +1 ,ntot);
tic
parfor i=1 :ntot
    my_yi=tmp(i,:);
    my_xi=emi;
    my_obj = @(p)dist_ln_nested(my_xi, my_yi, p);
    pf=fmincon(my_obj,p0,[],[],[],[],pinf,psup,[],options);
    [a,aa]=ln_a_N_fit(my_xi,pf);
    R=corrcoef(my_yi,a);
    resultats(:,i)=[pf(:);R(1,2)] ;
end
toc

% *****
% Data : utilisation directe des données de fit (exemple)
% *****

% intensités de fluorescence (carte)
FITlint=squeeze(FITstalexc(1,1,:));
FITlintr=reshape(FITlint,1333,51,1);
imagesc(FITlintr)

% intensités de fluorescence (scans moyens)
fil_266=mean(FITlintr(:,1:37),2);

% sauvegarde
save datastalexc.mat

```

```

% *****
% Data : utilisation des données de fit avec la méthode par rotation
% *****

% affiche les cartes correspondant à chaque pic
mat=FITstalexc;

figure,
for i = 1 : 3
subplot(1,3,i);
imagesc(medfilt2(squeeze(mat(i,:,:))));
axis equal
end

% sélectionne la zone à travailler
lim=fix(ginput)
lim=abs(lim);

% affiche la zone sélectionnée
figure,
for i = 1 : 3
subplot(1,3,i);
imagesc(medfilt2(squeeze(mat(i,lim(1,2):lim(2,2),lim(1,1):lim(2,1)))));
axis equal
end

% trace l'axe utilisé pour le traitement
ligne=ginput

% facteur de décalage de l'axe
lag=18;

% affiche la zone sélectionnée et l'axe avec son décalage pour visualiser
for i = 1 : 3
subplot(1,3,i);
imagesc(medfilt2(squeeze(mat(i,lim(1,2):lim(2,2),lim(1,1):lim(2,1)))));
tmp=medfilt2(squeeze(mat(i,lim(1,2):lim(2,2),lim(1,1):lim(2,1))));
hold on, line(ligne(:,1)+lag,ligne(:,2))
axis equal
end

% calcule l'angle de l'axe choisi
[a,r]=cart2pol((diff(ligne(:,1))),diff(ligne(:,2)));

% sélectionne une largeur sur laquelle appliquer la rotation
largeur=5

```

```
% crée un masque pour appliquer la rotation
maskr=(1:size(tmp,1) > fix(ligne(1,2)) & 1:size(tmp,1) < %
fix(ligne(1,2)) + r)';
maskc=1:size(tmp,2) > fix(ligne(1,1)) + lag - largeur & 1:size(tmp,2) < %
fix(ligne(1,1)) + lag + largeur;

% applique et affiche la rotation aux données puis moyenne les lignes
% après rotation
figure
for i = 1 : 3
subplot(1,3,i);
imagesc(imrotate(medfilt2(squeeze(mat(i,lim(1,2):lim(2,2),%
lim(1,1):lim(2,1)))),a));
imrot=imrotate(medfilt2(squeeze(mat(i,lim(1,2):lim(2,2),%
lim(1,1):lim(2,1)))),a);
scan(i,:)=mean(imrot(maskr,maskc)');
%axis equal
end

% affiche le scan obtenu après rotation et moyenne
figure, plot(scan')
```

Annexe 5 - Poster présenté au Congrès ASF 2013

ADAPTATION DE LA TECHNIQUE DE MESURE DE FLUORESCENCE X PAR SCANNER XRF AUX SPÉLÉOTHÈMES

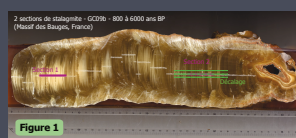
Marine QUIERS, Anne-Lise DEVELLE, Isabelle COUCHOUD, Emilie CHALMIN-ALJANABI, Yves PERRETTE

Laboratoire EDYTEM, UMR CNRS 5204, Université de Savoie, Bâtiment Pôle Montagne
F-73376 Le Bourget du Lac cedex
(@) Marine.Quiers@univ-savoie.fr

Introduction

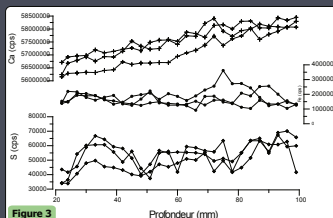
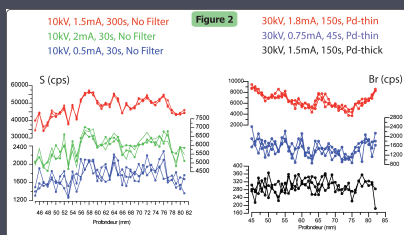
Le core-scanner XRF est un outil largement utilisé dans l'étude des archives sédimentaires, marines et lacustres. Il permet d'obtenir, de façon non destructive, des données sur le contenu élémentaire de ces archives, elles même étroitement liées aux processus contrôlés par les variations climatiques, environnementales et/ou activités anthropiques passées. Les spéleothèmes représentent de puissants objets d'enregistrement paléoclimatique et paléoenvironnemental. L'intérêt d'utiliser le core-scanner XRF est d'obtenir des informations non-destructives, à la fois pour l'étude des spéleothèmes mais également pour des études croisant plusieurs indicateurs et/ou plusieurs archives. C'est pourquoi, cette étude se propose de développer une méthodologie de mesure des spéleothèmes au core-scanner, grâce à une série de tests visant à valider et améliorer la qualité du signal.

Echantillonnage



Fenêtres de mesures et résolution (Figure 1):

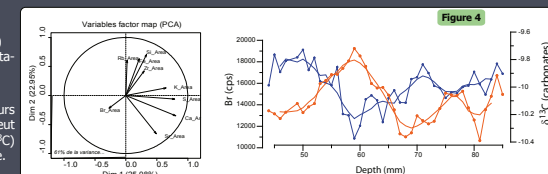
Largeur: 12 mm Hauteur: 1mm Pas de mesure: 1mm
Choix du pas de mesure en accord avec échantillons prélevés pour mesures quantitatives (en cours d'acquisition)



Interprétations préliminaires (Figure 4)

- ACP : une organisation logique mais une variance peu contrainte (61%)
-> transect trop court, manque données statistiquement représentatives?

- La comparaison entre les teneurs relatives en Brome (indicateur des teneurs en MO) et les valeurs isotopiques en $\delta^{13}\text{C}$ suggère une anticorrelation qui peut être interprétée comme un développement des sols (appauvrissement $\delta^{13}\text{C}$) et des teneurs en MO supérieures dans les eaux circulants dans le système.



Conclusions

Les premiers tests visant à valider le signal sont concluants :

- les données présentent une répétabilité importante sur plusieurs mesures.
 - la modification des paramètres de mesure, a permis une amélioration effective du signal (10 et 30kV).
 - L'interprétation des données suggère un signal cohérent, notamment avec des interprétations environnementales.
- Cependant, les mesures réalisées avec un déplacement spatial, présentent des biais certainement liés à la structure du spéleothème ainsi qu'aux variabilités de dépôt des éléments en s'éloignant de l'axe de croissance. L'éloignement au centre, la taille des fenêtres de mesure et la continuité de l'axe de croissance, pourraient donc limiter la qualité du signal. Cependant, cette mesure non-destructive reste très prometteuse, à condition de limiter et d'estimer les biais liés à la variabilité spatiale de ces archives

Perspectives

- Mesures quantitatives pour valider les variations élémentaires observées au core scanner XRF.
- Comparaison avec d'autres proxies, traceurs de changements paléoenvironnementaux ($\delta^{18}\text{O}$, fluorescence de la matière organique...)
- Mise au point d'une nouvelle approche basée sur le déplacement de la tête de détection pour suivre au mieux la structure des lamines
- Tests sur d'autres stalagmites plus ou moins riches en éléments non carbonatés pour tester cette approche

Traceurs organiques dans les spéléothèmes

Approche expérimentale et application au paléoenvironnement holocène du massif des Bauges

Cette thèse a pour objectif de tester l'intérêt des spéléothèmes en tant qu'archive pédologique dans le but de reconstruire l'histoire des sols à haute-résolution durant la période Holocène. Il s'appuie sur une partie expérimentale visant à tester la robustesse des proxies organiques comme indicateurs des variations environnementales au cours du temps, et sur l'utilisation des indicateurs robustes pour reconstruire l'évolution de l'environnement dans les Bauges durant les 6000 dernières années.

Le $\delta_{13}\text{C}$ de la matière organique (MO, indicateur de la dynamique de la MO dans les sols) et les lipides (indicateurs des contributions des différentes sources) ont été analysés en complément du $\delta_{13}\text{C}$ de la calcite. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) ont également été utilisés comme molécule sonde pour comprendre le transfert des différentes molécules organiques, et comme indicateur des combustions passées, naturelles ou anthropiques. Une attention particulière a été portée à l'optimisation de la méthode analytique, afin que la résolution temporelle des analyses soit compatible avec les questions environnementales. Les résultats obtenus pour ces proxies ne sont pas exploitables et montrent un manque de robustesse attribué à des problèmes analytiques ($\delta_{13}\text{C}_{\text{MO}}$, lipides), au type d'alimentation des spéléothèmes (HAP) ou à des effets de site ($\delta_{13}\text{C}$ calcite).

L'analyse de fluorescence UV en phase solide a été utilisée pour obtenir un enregistrement haute-résolution des variations semi-quantitatives et qualitatives de la MO. Un protocole a été développé pour quantifier l'intensité de fluorescence en phase solide (FPS). L'intensité de fluorescence en phase liquide d'extraits de MO des sols et des spéléothèmes ont été couplées par un modèle non linéaire à la FPS à haute résolution. Cette méthode a permis d'obtenir une chronique des flux de MO exportée depuis les sols sur une stalagmite test, provenant du Vercors (Grotte de Choranche) et couvrant les 400 dernières années.

Un enregistrement composite de l'intensité de fluorescence et du $\delta_{18}\text{O}$ a été créé à partir de trois spéléothèmes du massif des Bauges (salle du Précieux, réseau Garde-Cavale) se recoupant sur les derniers 6000 ans, et a permis l'interprétation des variations du paléoenvironnement. Celles-ci montrent une réponse de l'environnement aux forçages climatiques, basculant vers un forçage anthropique au cours du temps.

Cette étude démontre qu'il est possible d'obtenir un enregistrement haute-résolution de l'histoire des sols à l'échelle de la période Holocène par l'utilisation de la FPS. Le couplage avec des proxies organiques plus informatifs a cependant montré la limite de l'utilisation de ces derniers, due à leur manque de robustesse. La combinaison du signal de FPS avec le $\delta_{18}\text{O}$ des spéléothèmes a tout de même permis de réaliser une interprétation des variations environnementales durant l'Holocène. Celle-ci pourrait être améliorée en intégrant d'autres traceurs inorganiques (terres rares, éléments traces) qui n'ont pu être analysés durant cette thèse.

Mots-clefs : Paléoenvironnement ; Spéléothème ; Fluorescence ; Matière organique.

Organic proxies in speleothems

Experimental study and application on the Holocene Bauges paleoenvironment

This thesis aims to demonstrate the interest of speleothems as pedologic archives to reconstruct high resolution soil history during the Holocene. Experimental study was applied to test proxies robustness as environmental tracers. These robust tracers are used to reconstruct environmental evolution in the Bauges Massif during the last 6000 years. Organic matter (OM) $\delta_{13}\text{C}$ (tracer of OM dynamic in soils) and lipids (tracers of source contributors) were analyzed complementary to the $\delta_{13}\text{C}$ of calcite. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) were used as a "probe" to understand organic molecular transport from soils, and to record past natural and anthropogenic combustions. Attention was paid on the optimization of extraction method in order to obtain a temporal resolution suitable for environmental issues. Results obtained are not workable because of their lack of robustness attributed to analytical issues ($\delta_{13}\text{C}_{\text{OM}}$, lipids), to speleothem water feeding type (PAH), or to site-specific effect ($\delta_{13}\text{C}$).

OM semi-quantitative and qualitative variations were recorded at high resolution using the solid-phase fluorescence (SPF) analysis. A protocol was developed to quantify the fluorescence intensity obtained with SPF. Liquid-phase fluorescence intensity of soil and stalagmite OM extracts was coupled with high resolution SPF using a non linear model. OM fluxes record was obtained for a stalagmite-test from the Vercors Massif (last 400 years).

A composite record of SPF intensity and $\delta_{18}\text{O}$ was created from 3 stalagmites from the Bauges Massif (Précieux room, Garde-Cavale system), spanning the last 6000 years. It enabled the interpretation of paleoenvironmental variations which shows a change from a climatic to anthropogenic control.

This study shows that SPF is a reliable tool to record soil history during Holocene with high resolution. However, organic proxies coupling highlights the limit of their use, induced by a weak robustness. Combination of SPF and $\delta_{18}\text{O}$ enabled to reconstruct environmental variations during the Holocene. This interpretation could be improved by integrating other proxies such as rare earths or trace elements, which could not have been tested during this work due to experimental issues.

Keywords : Paleoenvironment ; Speleothem ; Fluorescence ; Organic matter.